



InoMed

Centrul pentru inovație
în medicină



Carta albă

a

Biomarkerilor în cancerul pulmonar non-microcelular



CARTA ALBĂ a

Biomarkerilor în cancerul pulmonar non-microcelular

Sumar

- I.** Impactul actual al cancerului pulmonar
- II.** Medicina de precizie în cancerul pulmonar
- III.** Biomarkeri validați pentru cancerul pulmonar
- IV.** Recomandările ghidurilor europene
- V.** Biomarkerul ALK: mecanisme și metode de testare
- VI.** Terapii țintite pentru NSCLC ALK pozitiv
- VII.** Direcții de viitor
- VIII.** Recomandări

I. IMPACTUL ACTUAL AL CANCERULUI PULMONAR

Incidența globală a cancerului este în creștere, în 2018 erau 18 milioane de noi cazuri, comparativ cu 14,1 milioane în 2012. Cancerul pulmonar determină cele mai multe decese de cauză oncologică, atât la nivel mondial, cât și în Europa, unde este cauza a 1 din 5 decese. În prezent, în Europa, rata de mortalitate prin cancer pulmonar este echivalentă cu cea determinată de cancerele de sân, de colon și de prostată combinate. Dacă nu sunt luate măsuri, numărul pacienților diagnosticați cu cancer anual în Europa va crește de la 3,5 milioane la peste 4,3 milioane până în 2035. Cancerul pulmonar este mai frecvent la bărbați, cele mai frecvente cazuri fiind înregistrate în Europa Centrală și de Est și Asia de Est. La femei, cancerul pulmonar este al 3-lea tip de neoplasm ca frecvență, cu rate mai mari în Europa de Nord, America de Nord.

În fiecare an, în România sunt diagnosticate în jur de 11.000 de cazuri noi de cancer pulmonar, reprezentând circa 13% din totalul cazurilor noi de cancer. Supraviețuirea la 5 ani a pacienților cu cancer pulmonar din România este de doar 10%, în timp ce în țările vestice acest procent este dublu¹.

La începutul anului 2020, Societatea Americană de Oncologie (ACS) publica statistici care arătau o reducere a mortalității prin cancer pulmonar cu 4%-5% pe an începând cu 2013, reducere asociată în principal cu dezvoltarea programelor de screening și dezvoltarea de noi tipuri de terapii. Din 2015, progresele realizate în cercetarea cancerului pulmonar le-au depășit pe cele din ultima jumătate de secol, abordarea acestui tip de neoplasm fiind transformată prin dezvoltarea genomicii, diagnosticului de precizie și tratamentelor ghidate de particularitățile moleculare și imunologice. Frecvența crescută a modificărilor genomice, recunoscute mai ales în adenocarcinomul pulmonar au determinat modificarea ghidurilor pentru includerea testărilor moleculare.

În fiecare an, în România sunt diagnosticate în jur de 11.000 de cazuri noi de cancer pulmonar, reprezentând circa 13% din totalul cazurilor noi de cancer. Supraviețuirea la 5 ani a pacienților cu cancer pulmonar din România este de doar 10%, în timp ce în țările vestice acest procent este dublu.

¹ <https://www.eiu.com/n/campaigns/breathing-in-a-new-era-a-comparative-analysis-of-lung-cancer-policies-across-europe/>

II. MEDICINA DE PRECIZIE ÎN CANCERUL PULMONAR

Atunci când ne gândim la cancerul pulmonar, avem în minte o singură boală. Totuși, această maladie nu este unitară, ci există mai multe tipuri de cancer pulmonar, definite prin profile moleculare specifice (biomarkeri), care au în comun dezvoltarea la nivelul aceluiași organ.

Diagnosticul de precizie este important, deoarece fiecare tip de cancer pulmonar astfel definit poate primi un tratament specific, crescând speranța de viață și calitatea vieții, inclusiv prin diminuarea efectelor adverse ale medicamentelor.

După caracteristicile histologice, cancerul pulmonar poate fi împărțit în două categorii: cancer pulmonar non-microcelular (NSCLC), care reprezintă 85% din cazuri și cancer pulmonar microcelular (15% din cazuri). **Cancerul pulmonar microcelular** se dezvoltă din celulele neuroendocrine localizate în centrul plămânului și se asociază cu un prognostic negativ, deoarece crește rapid și are tendința pronunțată spre metastazare: invadează vasele și ganglionii limfatici locali devreme în evoluția sa. Apariția cancerului pulmonar cu celule mici este puternic influențată de consumul de tutun. Fumatul timp de 20-30 de ani crește riscul de cancer pulmonar cu celule mici de 10 de ori. În lipsa tratamentului, SCLC are o supraviețuire medie de 2-4 luni de la diagnostic. Forma avansată a bolii conduce la o supraviețuire medie de 6-12 luni, cu tratament. Cu tratament optim, 10% din pacienți supraviețuiesc minimum 2 ani fără urme de boală.

NSCLC cuprinde alte 3 subtipuri: adenocarcinomul, carcinomul cu celule scuamoase și carcinomul pulmonar cu celule mari. Cea mai frecventă formă de NSCLC, adenocarcinomul, reprezintă 40% din totalul cazurilor. Această tumoră se dezvoltă din celule alveolare tip II. **Adenocarcinomul** este tipul de cancer pulmonar cel mai des întâlnit la nefumători: 62-70% dintre cancerile pulmonare ale pacienților nefumători.

Clasificarea histologică nu mai reflectă, însă, complexitatea cancerului pulmonar, care nu reprezintă o singură boală, ci mai multe afecțiuni care pot fi caracterizate astăzi prin prisma profilului genomic. Cancerul pulmonar

non-microcelular a devenit un exemplu al succesului medicinei de precizie în managementul cancerelor solide.

Deși chimioterapia a reprezentat de peste 70 de ani tratamentul standard pentru pacienții cu cancer pulmonar non-microcelular metastatic, răspunsul la terapia clasică citotoxică este modest. Tratamentul cancerului pulmonar metastatic a trecut de la o paradigmă nespecifică, în care pacienții erau tratați indiferent de subtipul histologic cu dublete de platină - tratament care se traduce printr-o rată de supraviețuire globală redusă, la o etapă în care tratamentul este ghidat de biomarkeri.

Datorită evoluției tehnicilor moleculare și analizei genomului cancerului s-a demonstrat că tumorile solide sunt heterogene din punct de vedere genetic, atât între indivizii care prezintă același tip tumoral, cât și în cadrul unei singure tumori (heterogenitate intra-tumorală). Mai mult decât atât, există o diversitate de markeri moleculari și între tumora primară și metastaze. Variabilitatea mare care există între diferite tipuri histologice de cancer pulmonar explică răspunsurile diferite la tratament care se întâlnesc în practica medicală².

În prezent, aproximativ 50% dintre pacienții cu cancer pulmonar sunt candidați pentru terapii țintite. În 2020, FDA a aprobat 3 noi terapii țintite pentru NSCLC care se adresează unor mutații care nu aveau tratament specific anterior³. Doar în luna mai au fost aprobate noi terapii pentru cancerul pulmonar în fiecare săptămână. În 2021 a fost aprobată prima terapie țintită pentru cancere pulmonare care prezintă mutații la nivelul KRAS, considerată timp de 40 de ani o țintă neacționabilă.

Cancerul pulmonar non-microcelular a devenit un exemplu al succesului medicinei de precizie în managementul cancerelor solide.

În prezent, aproximativ 50% dintre pacienții cu cancer pulmonar sunt candidați pentru terapii țintite. În 2020, FDA a aprobat 3 noi terapii țintite pentru NSCLC care se adresează unor mutații care nu aveau tratament specific anterior.

III. BIOMARKERII VALIDAȚI ÎN CANCERUL PULMONAR

Un biomarker reprezintă o caracteristică biologică, care poate fi măsurată și evaluată în mod obiectiv, devenind un indicator al unui proces biologic normal sau patologic. Biomarkerii reprezintă un element-cheie în oncologie și pentru medicina personalizată. Prin punerea în evidență a biomarkerilor, se realizează un diagnostic de precizie al cancerului, care poate sta la baza administrării

² <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7369725/>

³ <https://www.targetedonc.com/view/ret-met-inhibitors-advance-targeted-therapies-in-nsclc>

tratamentului potrivit pentru pacientul potrivit, la momentul potrivit, și încă de la început.

Biomarkerii pot fi de mai multe feluri, în funcție de utilitatea acestora:

- **biomarkeri de risc** - indică riscul de a suferi de o anumită boală
- **biomarkeri diagnostici** - arată prezența unei boli în organism
- **biomarkeri de predicție** – indică răspunsul și toxicitatea față de un anumit tratament
- **biomarkeri de prognostic** - dau indicii cu privire la evoluția favorabilă sau agresivă a unei boli

Identificarea de anomalii genomice acționabile a condus la dezvoltarea oncologiei de precizie. Terapia ghidată de profilul genetic a demonstrat îmbunătățirea prognosticului pacienților, a crescut ratele de succes ale studiilor clinice.

Mutațiile driver sunt acele anomalii care au un rol major în inițierea și în progresia dezvoltării tumorale. Restul genelor mutante sunt numite gene pasager (passenger genes), care nu determină fenotipul bolii, însă pot deveni driver. Genele care dobândesc mutații driver pot fi clasificate în oncogene și gene supresoare tumorale. Proto-oncogenele sunt gene normale care contribuie la creșterea celulară. Atunci când o proto-oncogenă e mutantă, aceasta poate deveni activată și se transformă într-o oncogenă (ex. KRAS, EGFR), ceea ce conduce la apariția cancerului prin creșterea necontrolată a celulelor. Genele supresoare tumorale (ex. TP53, BRCA2, Bcl2 etc.) sunt implicate în mod normal în repararea erorilor de la nivel ADN, în încetinirea diviziunii celulare și apoptoză. Atunci când aceste gene prezintă mutații, celulele pot crește de asemenea, necontrolat. O diferență importantă între oncogene și genele supresoare tumorale este că oncogenele rezultă din activarea proto-oncogenelor, iar genele supresoare tumorale conduc la cancer atunci când sunt inactivate. Terapiile oncologice folosite în prezent în practica medicală țintesc oncogene, mai frecvent decât gene supresoare tumorale. De-a lungul timpului au fost descoperite medicamente care inactivează proteine codificate de alte oncogene cum ar fi EGFR sau BRAF. Acestea inhibă în general acțiunea proteinelor. Proteinele codificate de genele supresoare tumorale sunt deja inactivate.

Primele descoperiri asupra modificărilor genetice care apar în cancerul pulmonar erau limitate la adenocarcinom. După dezvoltarea tehnicilor de

Mutațiile driver sunt acele anomalii care au un rol major în inițierea și în progresia dezvoltării tumorale. Restul genelor mutante sunt numite gene pasager (passenger genes), care nu determină fenotipul bolii, însă pot deveni driver.

secvențiere masivă paralelă, caracterizarea moleculară a celorlalte tipuri histologice a devenit mult mai accesibilă. Primele mutații în NSCLC au fost KRAS și TP53. Ulterior, în 2004, au fost descrise mutații la nivelul genei EGFR, ce caracterizează aproximativ 15% în cazurile de NSCLC. KRAS reprezintă cea mai frecventă oncogenă în NSCLC (20-35% din cazuri).

Spectrul de modificări genomice care apar în cancerul pulmonar este divers. Poate include atât modificări simple cum sunt mutațiile punctiforme ce apar la nivelul genelor EGFR sau anomalii complexe cum sunt fuziunile genice. Pentru fuziunile genelor NTRK nu există indicatori clinici sau histologici, testarea agnostică pentru toți pacienții cu NSCLC este esențială pentru identificarea caracteristicilor moleculare ale tumorilor. Aprobările de medicamente pentru indicații independente de localizarea tumorală (tumor agnostic) precum entrectinib, larotrectinib și pembrolizumab au marcat o nouă fază a dezvoltării de medicamente pe baza biomarkerilor.

Primele mutații în NSCLC au fost KRAS și TP53. Ulterior, în 2004, au fost descrise mutații la nivelul genei EGFR, ce caracterizează aproximativ 15% în cazurile de NSCLC. KRAS reprezintă cea mai frecventă oncogenă în NSCLC (20-35% din cazuri).

IV. RECOMANDĂRILE SOCIETĂȚII EUROPENE DE ONCOLOGIE

Ghidurile **ESMO** pentru NSCLC recomandă testarea mutațiilor EGFR și BRAF, analiza rearanjamentelor ALK, ROS1 și NTRK și determinarea expresiei PD-L1. **ESMO recomandă utilizarea de rutină a testării NGS în cancerul pulmonar non-microcelular, non-scuamos avansat.** Panelurile multigenice sunt recomandate în cazul în care profilul de cost-eficiență este favorabil, evaluare care trebuie realizată în funcție de particularitățile regionale/naționale⁴.

Ghidurile **NCCN, ASCO, IASLC** recomandă testarea unor paneluri extinse care includ și biomarkeri emergenți, pentru care acționabilitatea clinică este în curs de evaluare (KRAS, MET, RET, ERBB2).

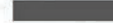
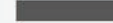
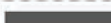
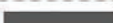
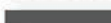
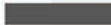
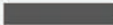
Grupul de Lucru pentru Medicina de Precizie din cadrul ESMO a elaborat un sistem de clasificare a țintelor moleculare în funcție de gradul în care pot fi acționate terapeutic, clasificarea **ESCAT** (ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets), formulând recomandări pentru indicațiile testării NGS în practică:

Ghidurile ESMO pentru NSCLC recomandă testarea mutațiilor EGFR și BRAF, analiza rearanjamentelor ALK, ROS1 și NTRK și determinarea expresiei PD-L1. ESMO recomandă utilizarea de rutină a testării NGS în cancerul pulmonar non-microcelular, non-scuamos avansat.

⁴ <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer>

**RECOMANDĂRILE GHIDURILOR INTERNAȚIONALE REFERITOARE LA TESTAREA
BIOMARKERILOR PREDICTIVI ȘI EMERGENȚI PENTRU ALEGEREA
OPȚIUNILOR TERAPEUTICE ÎN NSCLC**



BIOMARKERI PREDICTIVI	GHIDURI ESMO	GHIDURI NCCN	GHIDURI CAP/IASLC/AMP	GHIDURI ASCO	GHIDURI PAN-ASIAN
EGFR					
ALK					
ROS1					
BRAF					
PD-L1					
NTRK					
BIOMARKERI EMERGENȚI					
KRAS					
MET					
RET					
ERBB2/HER2					
TMB					

 Este recomandată testarea
 Este recomandată testarea unui panel extins
 Nu există recomandări la momentul actual
 Este recomandată testarea unei singure gene sau a unui panel extins

Kerr et. al "The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe", 2021

- Se recomandă ca o probă tumorală (sau plasmatică) de la pacienții cu NSCLC non-scuamos **să fie testată prin NGS pentru a se detecta anomaliile genomice de clasa I** (ESCAT).
- Având în vedere frecvența crescută a fuziunilor, secvențierea ADN sau ARN se preferă pentru detectarea acestor anomalii. **Panelurile care detectează gene cu o frecvență mai mică pot fi folosite doar dacă sunt clasificate conform unui sistem validat** (ESCAT, OncoKB) și pe baza unor acorduri cu autoritățile locale, luând în considerare costurile generale ale strategiei.
- Se recomandă ca spitalele în care se desfășoară studii clinice să realizeze testări multigenice în contextul programelor de screening molecular, din moment ce cancerul pulmonar prezintă modificări genetice din clasele II-IV⁵.

Nivelul I de recomandare include biomarkeri care pot fi testați de rutină și pentru care se recomandă terapii specifice atunci când o anomalie moleculară e detectată.

5 [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(20\)39971-3/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(20)39971-3/fulltext)

Mutațiile EGFR reprezintă prima clasă de modificări driver identificate în cancerul pulmonar non-microcelular non-scuamos. Cele mai multe sunt deleții la nivelul exonului 21 (**L858R**), urmate de mutații dobândite, prin mecanisme de rezistență, la nivelul exonului 20 (**T790M**). Studii randomizate de fază 3 au arătat că inhibitorii tirozin kinazici îmbunătățesc prognosticul pacienților cu NSCLC EGFR pozitiv. Pe baza acestor date, anomaliile menționate anterior de la nivelul genei EGFR sunt încadrate **în cel mai înalt nivel de recomandare pentru testare în sistemul ESCAT (IA)**.

Rearanjamentele ALK. Majoritatea ghidurilor recomandă ca pacienții cu adenocarcinom sau suspiciune de adenocarcinom să fie testați pentru rearanjamente ale genei ALK. În 2007 a fost identificată o translocatie care implică gena **ALK** (anaplastic lymphoma kinase) și gena EML4 în cancerul pulmonar non-microcelular (cel mai frecvent partener de fuziune). În 3-7% din cazurile NSCLC apar fuziuni la nivelul genei ALK, anomalii care conduc la activarea proteinei codificate. Înainte de introducerea terapiilor țintite cu inhibitori de tirozin-kinaze anti ALK, supraviețuirea globală medie la pacienții cu NSCLC metastatic ALK pozitiv era de 12 luni. După introducerea inhibitorilor tirozinkinazici, supraviețuirea a crescut la 5 ani⁶. Descoperirea fuziunilor ALK în NSCLC a condus la aprobarea în timp record (în doar 4 ani) a primului inhibitor, crizotinib, stimulând cercetările pentru identificarea de noi oncogene.

ROS1 este o proto-oncogenă (c-ros oncogene 1) care codifică un receptor tirozin-kinazic cu structură similară cu proteina ALK. Aproximativ 2% din cazurile de NSCLC sunt pozitive pentru rearanjamente la nivelul genei ROS1. La fel ca în cazul rearanjamentelor ALK, pacienții tind să aibă o vârstă mai mică la momentul diagnosticului și nu au istoric de consum de tutun. În clasificarea ESCAT, ROS1 este unul dintre biomarkerii prioritari pentru testare în NSCLC avansat (**IB**)

Mutațiile BRAF V600 ar trebui testate de rutină în NSCLC avansat pentru prescrierea tratamentului cu inhibitori BRAF/MEK (**IB**). Acestea apar în 2% din cazurile de NSCLC. Mutația BRAF V600E este cea mai frecventă din familia BRAF V600, acestea fiind mutual exclusive cu mutațiile EGFR și KRAS.

Fuziunile NTRK reprezintă o generație mai recentă de biomarkeri, reprezentând un exemplu al categoriei de biomarkeri de **tip tumor agnostic/tissue-agnostic** (independent de localizarea tumorală). Larotrectinib și

Majoritatea ghidurilor recomandă ca pacienții cu adenocarcinom sau suspiciune de adenocarcinom să fie testați pentru rearanjamente ale genei ALK.

Înainte de introducerea terapiilor țintite cu inhibitori de tirozin-kinaze anti ALK, supraviețuirea globală medie la pacienții cu NSCLC metastatic ALK pozitiv era de 12 luni. După introducerea inhibitorilor tirozinkinazici, supraviețuirea a crescut la 5 ani

⁶ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00726/full>

entrectinib au demonstrat răspunsuri durabile în tumorile care prezintă fuziuni NTRK, ceea ce a condus la autorizări din parte FDA și EMA începând cu 2018.

Mutațiile la nivelul KRAS sunt cel mai frecvent întâlnite alterări moleculare în cancerul pulmonar non-microcelular, în aproximativ 25% din cazuri și se produc cel mai des la nivelul codonului 12. Prezența acestora se asociază cu fumatul și atrage un prognostic slab și un răspuns modest la tratamentul cu inhibitori tirozin kinazici anti-EGFR, dar nu influențează răspunsul la chimioterapie. Mutațiile la nivelul KRAS nu se întâlnesc în general împreună cu alte mutații în EGFR, ROS1, BRAF, ALK; din acest motiv, testarea inițială a KRAS reprezintă o metodă de selecție a pacienților care ar putea să nu beneficieze de testări moleculare ulterioare.

V. BIOMARKERUL ALK

Tipuri de anomalii la nivelul genei ALK

Gena ALK (anaplastic lymphoma kinase) codifică un receptor tirozin kinazic transmembranar. Expresia ALK apare în sistemul nervos în perioada embrionară și scade postnatal. La adulți, niveluri scăzute ale proteinei ALK apar rar în țesutul nervos și celulele endoteliale. Există 3 tipuri de mutații care implică gena ALK: rearanjamente, amplificări și mutații punctiforme.

La nivelul ALK apare mai frecvent un tip de rearanjament numit translocatie la nivelul cromozomului, ceea ce conduce la o fuziune între gena ALK și o altă genă. Rearanjamentele apar la aproximativ 5% dintre pacienții cu NSCLC.

Mutațiile genei ALK au fost descrise pentru prima dată în 2007, când s-a identificat un rearanjament între genele EML4 și ALK, determinând apariția proteinei de fuziune EML4-ALK (oncogenă). O inversiune la nivelul brațului lung al cromozomului 2 determină apropierea capătului 5' al genei EML4 de capătul 3' al genei ALK și rezultă o genă de fuziune care codifică o kinază ALK activă. Independent de atașarea unui ligand, EML4 facilitează dimerizarea proteinei de fuziune și determină activarea constitutivă a domeniului ALK kinazic.

ALK a fost identificată pentru prima dată în 1994, în cadrul unei fuziuni (NPM-ALK), asociată limfomului anaplastic cu celulă mare. Ulterior, rearanjamentele

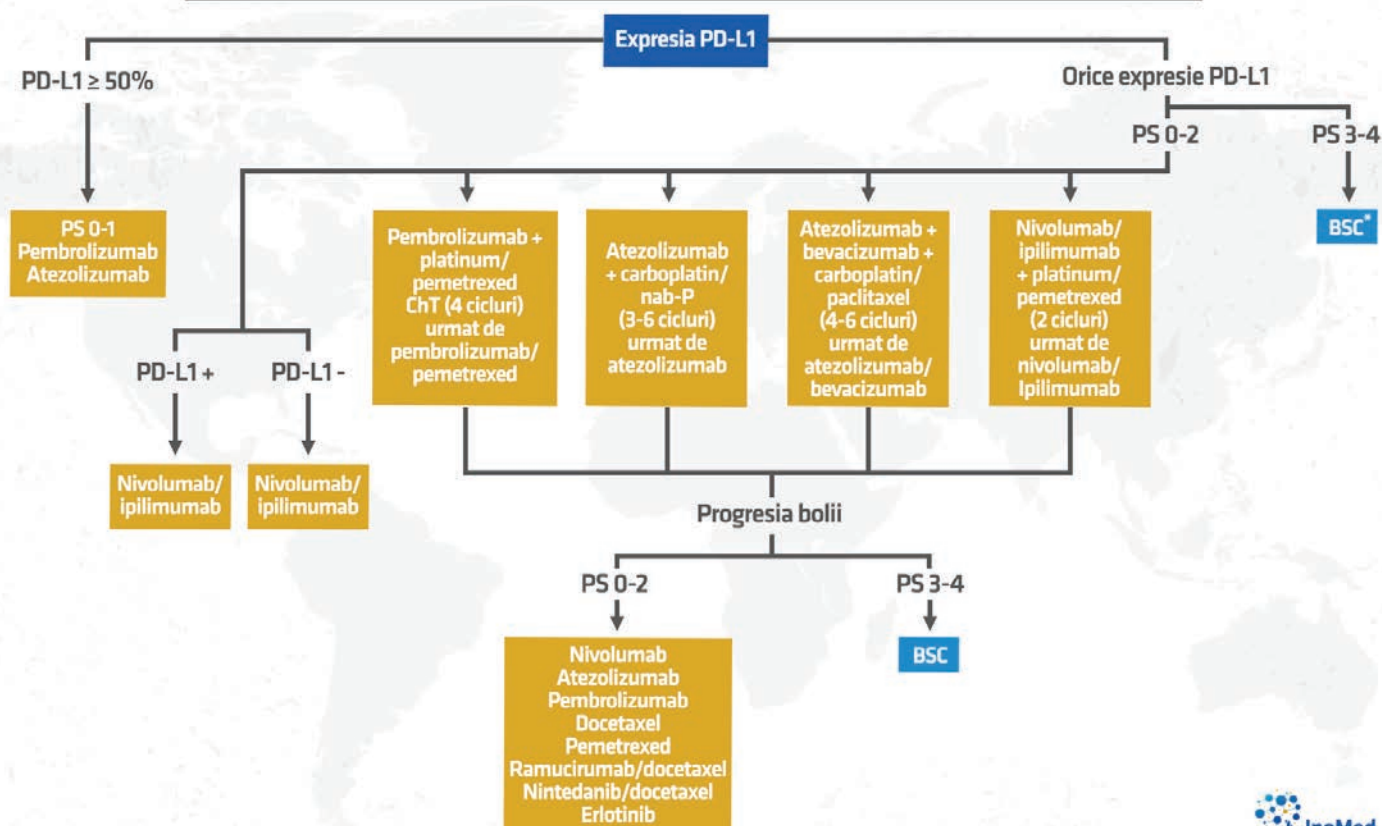
ALK a fost identificată pentru prima dată în 1994, în cadrul unei fuziuni (NPM-ALK), asociată limfomului anaplastic cu celulă mare. Ulterior, rearanjamentele ALK au fost identificate în multe tipuri de cancere (NSCLC, cancer scuamos esofagian, cancer colorectal, limfom difuz cu celulă mare B).

ALK au fost identificate în multe tipuri de cancere (NSCLC, cancer scuamos esofagian, cancer colorectal, limfom difuz cu celulă mare B).

La fel ca în cazul mutațiilor EGFR, rearanjamentele ALK sunt mai frecvente la nefumători. Pacienții cu tumori ALK pozitive sunt în general mai tineri și nu există diferențe între sexe, cum se observă în cazul mutațiilor EGFR⁷. Vârsta medie a pacienților diagnosticați este de 55 de ani și aproximativ 70% sunt nefumători.

Există multiple mecanisme care pot determina rezistența în NSCLC ALK pozitiv. Mecanismele de rezistență dependente de ALK includ mutațiile secundare de la nivelul domeniului ALK kinazei (L1196M)) și amplificările ALK. Rezistența poate fi determinată și prin mecanisme independente de ALK prin activarea unor căi de semnalizare alternative (EGFR, c-KIT și RAS)⁸.

GHID ESMO 2020: ALGORITMUL DE TRATAMENT PENTRU NSCLC, STADIUL IV, NEGATIV PENTRU ALK/BRAF/EGFR/ROS1



*BSC - Best Supportive Care
 Planchard et al. "Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up", Ann Oncol, 2018

⁷ <https://oncologypro.esmo.org/education-library/factsheets-on-biomarkers/alk-in-lung-cancer>

⁸ <https://www.genentechoncology.com/pathways/cancer-tumor-targets/alk.html>

METODE DE TESTARE

Există diferite tehnologii care permit detectarea rearanjamentelor ALK: **FISH** (fluorescence in situ hybridization, imunohistochimie (**IHC**), **RT-PCR** și secvențiere de nouă generație (**NGS**).

Tehnica **FISH** a fost utilizată în studiile clinice care au condus la prima aprobare a unui inhibitor ALK (crizotinib). Testele FISH implică însă costuri relativ ridicate, este consumatoare timp și necesită personal calificat. De asemenea, interpretarea rezultatelor depinde mult de examinator. Paucitatea celulelor tumorale în multe probe face ca interpretarea să fie dificilă.

Testarea se poate realiza și prin RT-PCR, însă această metodă nu are sensibilitatea optimă, iar costurile sunt moderate. Fuziunile rare pot fi omise dacă primerii folosiți pentru reacția multiplex nu sunt specifici, iar calitatea ARN-ului mesager poate fi redusă din cauza probelor fixate cu formalină și parafina.

O metodă alternativă de diagnostic este bazată pe detecția expresiei proteinelor de fuziune ALK prin analiză de imunohistochimie (IHC). IHC implică un timp mai scurt de obținere a rezultatelor, costuri mai scăzute și în general reprezintă o metodă fezabilă de screening pentru identificarea probelor care ar putea necesita o confirmare prin FISH sau mai rar prin RT-PCR⁹. Dezvoltarea de anticorpi (ALK-1, 5A4, D5F3) cu sensibilitate înaltă pentru ALK a permis dezvoltarea testelor bazate pe IHC.

În 2015, FDA a aprobat testul Ventana ALK (D5F3) CDx pentru identificarea pacienților eligibili pentru crizotinib. Acest test a demonstrat sensibilitate și specificitate mai ridicate comparativ cu FISH sau alte teste IHC în detectarea proteinelor ALK. De asemenea, această metodă nu necesită un test FISH pentru confirmare¹⁰. În martie 2021, FDA a aprobat Ventana ALK (D5F3) CDx ca test de tip companion diagnostic pentru identificarea pacienților cu NSCLC ALK pozitiv eligibili pentru tratament cu lorlatinib¹¹.

Creșterea numărului de terapii țintite a determinat o schimbare de strategie, de la testarea secvențială a unor gene până la nevoia de teste multigenice. NGS permite maximizarea șanselor de identificare a unor anomalii genomice relevante dintr-o cantitate limitată de țesut, ceea ce reduce timpul și costurile. Astăzi, secvențierea genomică țintită pentru selecția terapiei oncologice are

Există diferite tehnologii care permit detectarea rearanjamentelor ALK: FISH (fluorescence in situ hybridization, imunohistochimie (IHC), RT-PCR și secvențiere de nouă generație (NGS).

În 2015, FDA a aprobat testul Ventana ALK (D5F3) CDx pentru identificarea pacienților eligibili pentru crizotinib. Acest test a demonstrat sensibilitate și specificitate mai ridicate comparativ cu FISH sau alte teste IHC în detectarea proteinelor ALK.

⁹ <https://oncologypro.esmo.org/education-library/factsheets-on-biomarkers/alk-in-lung-cancer>

¹⁰ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6280637/>

¹¹ <https://www.prnewswire.com/news-releases/roche-receives-fda-approval-for-ventana-alk-d5f3-cdx-assay-to-identify-lung-cancer-patients-eligible-for-targeted-treatment-with-lorbrena-lorlatinib-301242933.html>

costuri comparabile cu testele standard care se realizează pentru 5-10 gene diferite. La același preț poate permite caracterizarea moleculară mai precisă a tumorii pentru stratificarea pacienților.

Secvențierea de nouă generație (NGS) a devenit una dintre metodele recomandate de Societatea Europeană de Oncologie Medicală pentru obținerea unui profil molecular comprehensiv al pacienților cu cancer pulmonar, cancer de prostată, cancer ovarian sau colangiocarcinom. Prin NGS pot fi detectate variante structurale, modificări ale numărului de copii, fuziuni genice, rearanjamente cromozomiale, reducând costurile și timpul necesar pentru realizarea unei evaluări comprehensive. Astfel pot fi detectate modificări genice concomitente la pacienți clasificați într-un anumit subgrup molecular, definirea complexității genomice și prognosticului pacienților oncologici¹².

Introducerea platformelor NGS în practica medicală presupune și provocări de natură organizațională. Pentru asigurarea calității rezultatelor testării NGS, întregul proces - începând de la prelevarea de țesut și până la obținerea rezultatelor - trebuie să fie structurat corespunzător. Complexitatea datelor care rezultă în urma analizei NGS necesită dezvoltarea de instrumente care să permită interpretarea facilă în context clinic. Crearea de comitete multidisciplinare (molecular tumor boards) este esențială pentru interpretarea rezultatelor testelor genomice și alegerea opțiunii terapeutice pentru fiecare pacient¹³.

Dacă în 2013 ghidurile internaționale recomandau doar testarea EGFR și ALK pentru pacienții cu adenocarcinom în stadiu avansat, în ultimii ani, recomandările pentru testare comprehensivă la momentul diagnosticului de cancer pulmonar non-microcelular include din ce în ce mai mulți biomarkeri (EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NTRK, MET, RET, HER2).

BIOMARKERI PREDICTIVI ȘI EMERGENȚI PENTRU NSCLC, ÎN EUROPA


BIOMARKERI PREDICTIVI	FRECVENȚA ÎN NSCLC	TEHNOLOGII DE TESTARE RECOMANDATE DE GHIDURI	TERAPII ȚINTITE APROBATE DE AGENȚIA EUROPEANĂ A MEDICAMENTULUI
MUTAȚII EGFR	15%	ORICE TEHNOLOGIE POTRIVITĂ, VALIDATĂ	AFATINIB, DACOMITINIB, ERLOTINIB, GEFITINIB, OSIMERTINIB
REARANJAMENTE ALK	5%	FISH, IHC, NGS	ALECTINIB, BRIGATINIB, CERITINIB, CRIZOTINIB, LORATINIB
REARANJAMENTE ROS1	2%	FISH, IHC, NGS	CRIZOTINIB, ENTRECTINIB
REARANJAMENTE NTRK	<1%	IHC, FISH, RT-PCR, NGS	ENTRECTINIB, LAROTRECTINIB
MUTAȚII BRAF	2%	ORICE TEHNOLOGIE POTRIVITĂ, VALIDATĂ	DABRAFENIB/TRAMETINIB
NIVEL EXPRESIE PD-L1	33 %: ≥50 % TPSL 30 %: 1-49 % TPS 37 %: <1 % TPS	IHC	INHIBITORI AI PUNCTELOR DE CONTROL
BIOMARKERI EMERGENȚI		POTENȚIALE TEHNOLOGII DE TESTARE	TERAPII ȚINTITE AFLATE SUB INVESTIGARE
REARANJAMENTE RET	2%	FISH, RT-PCR, NGS	ALECTINIB, CABOZANTINIB, LENVATINIB, NINTEDANIB, PONATINIB, PRALSETINIB, REGORAFENIB, SELPERCATINIB, SORAFENIB, SUNITINIB, VANDETANIB
MUTAȚII MET	3%	IHC, FISH, NGS	CABOZANTINIB, CAPMATINIB, CRIZOTINIB, MCCC265, TEPOTINIB
MUTAȚII ERBB2/HER2	2%	NGS	ADO-TRASTUZUMAB EMTANSINE, AFATINIB, DACOMITINIB, FAM-TRASTUZUMAB, DERUXTECAN-XXKI, TRASTUZUMAB
MUTAȚII KRAS	25-33%	RT-PCR, PYROSEQUENȚIERE, NGS	INHIBITORI DIRECTI KRAS: ADAGRASIB, SOTORASIB, GDC-6036
REARANJAMENTE NRG1	<1%	NGS	AFATINIB
FGFR1	NU SE CUNOSC DATE	NGS	BGJ398, ROGARATINIB
TMB	NU SE CUNOSC DATE	SECVENȚIEREA ÎNTREGULUI EXOM	INHIBITORI AI PUNCTELOR DE CONTROL

Kerr et. al "The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe", 2021

¹² <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33333743/>

Comprehensive genomic profiling – CGP este o strategie de diagnostic bazată pe secvențiere de nouă generație (NGS) care utilizează un singur test pentru evaluarea a sute de gene, inclusiv biomarkeri relevanți în oncologie pentru ghidarea terapiei. Tehnologia permite examinarea unor regiuni exonice extinse care includ gene relevante în dezvoltarea cancerului, spre deosebire de testele de tip hotspot care identifică o singură mutație pe rând.

CGP implică detectarea simultană a principalelor clase de modificări genomice: substituții de baze azotate, inserții sau deleții, modificări ale numărului de copii și rearanjamente genice. Cu ajutorul unui singur test multiplex se elimină necesitatea testării secvențiale și este posibilă detectarea celor mai frecvenți biomarkeri, precum și a unor anomalii rare. Această strategie crește șansele de a se identifica modificări acționabile și reduce costurile și riscurile asociate unei noi biopsii. Prin CGP se pot identifica și biomarkeri complecși, precum încărcătura mutațională tumorală (TMB) și instabilitatea microsatelitară (MSI).

Dacă în 2013 ghidurile internaționale recomandau doar testarea EGFR și ALK pentru pacienții cu adenocarcinom în stadiu avansat, în ultimii ani, recomandările pentru testare comprehensivă la momentul diagnosticului de cancer pulmonar non-microcelular include din ce în ce mai mulți biomarkeri (EGFR, ALK, ROS1, BRAF, KRAS, NTRK, MET, RET, HER2). Multiple studii și modele matematice arată că testarea comprehensivă, de la început, este cost-eficientă și rapidă, comparativ cu testare secvențială¹⁴. NGS reprezintă un instrument esențial pentru testarea genomică comprehensivă, mai ales atunci când probele de țesut sunt limitate. FoundationOneCDx este primul test de tip companion diagnostic, care permit testarea genomică comprehensivă, aprobat de FDA pentru toate tumorile solide. Până în prezent este folosit ca test de timp companion diagnostic pentru 28 de indicații. În iunie 2021, FDA a aprobat testul pentru ghidarea tratamentului cu brigatinib¹⁵.

Din cauza heterogenității tumorale, o biopsie de țesut poate să nu reflecte caracteristicile tuturor celulelor transformate malign, o limitare ce poate fi depășită cu ajutorul biopsiei lichide, o metodă care capătă amploare. În 2020, Guardant360 CDx a fost aprobat de FDA, reprezentând primul test care combină biopsia lichidă cu secvențierea de nouă generație și permite testarea simultană la 55 de gene¹⁶. În același an, FDA a aprobat FoundationOne Liquid CDx, singurul test bazat pe biopsie lichidă care testează 324 de gene folosind ADN liber circulant izolat din plasmă.¹⁷

¹⁴ <https://www.iaslc.org/iaslc-news/ilcn/broad-molecular-testing-lung-cancer-struggle-translate-recommendations-clinical>

¹⁵ <https://www.foundationmedicine.com/press-releases/1f035abc-35f0-417f-bf06-2115eb386579>

¹⁶ <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-liquid-biopsy-next-generation-sequencing-companion-diagnostic-test>

¹⁷ <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0237802>

VI. TERAPII

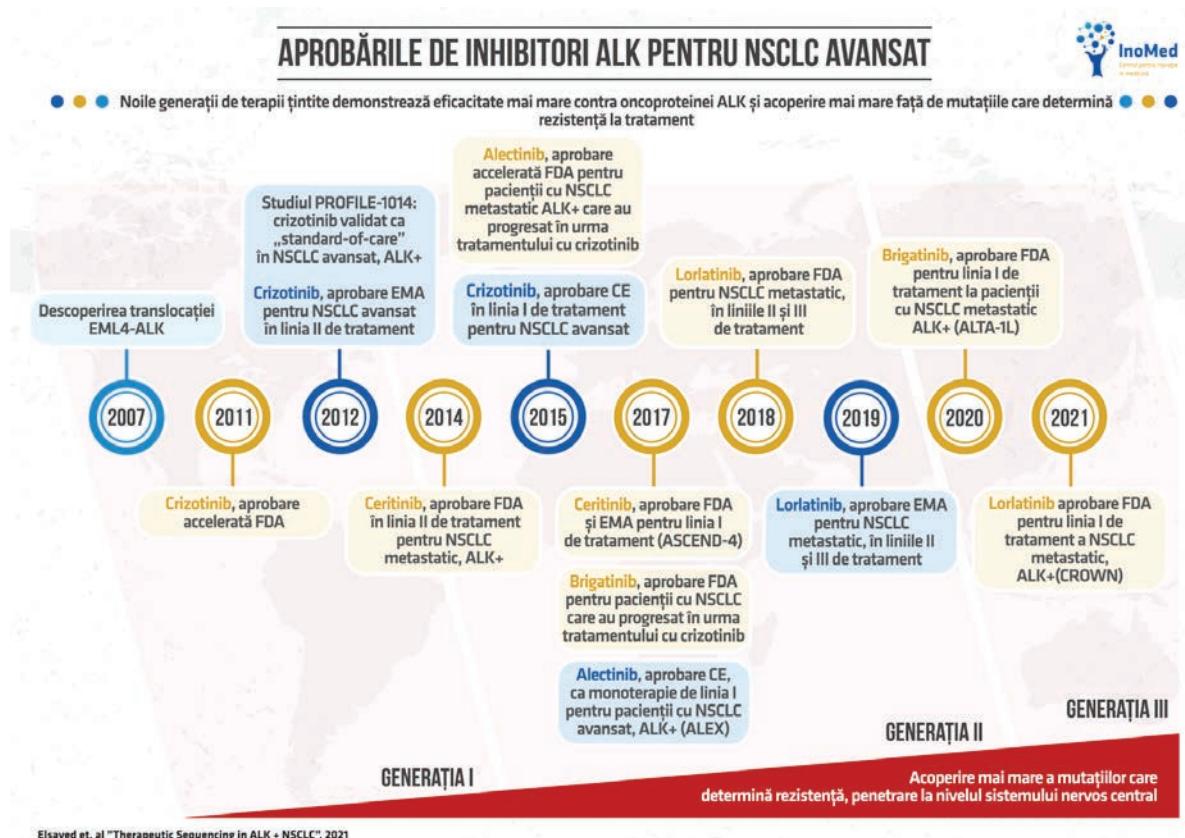
Rearanjamentele ALK reprezintă al doilea tip de mutații driver care apar în cancerul pulmonar, iar în ultimul deceniu, datorită terapiilor țintite, prognosticul pacienților s-a schimbat semnificativ.

Proteinele de fuziune ALK pot activa multe căi de semnalizare precum JAK/STAT, PI3K/Akt, Ras/Raf/MEK, acestea fiind implicate în proliferarea și supraviețuirea celulară. Indiferent de partenerii de fuziune, toate proteinele himerice păstrează domeniul kinazic ALK responsabil pentru activarea constitutivă a căilor de semnalizare ALK. Crizotinib a fost primul inhibitor ALK aprobat de FDA, în 2015, pentru NSCLC avansat. În studiul PROFILE 1041 a fost demonstrată eficacitatea în ceea ce privește supraviețuirea fără progresia bolii și rata obiectivă de răspuns față de chimioterapia pe bază de platină.

Deși crizotinib crește supraviețuirea la pacienții cu NSCLC, cei mai mulți pacienți dezvoltă rezistență, fiind descrise mai multe tipuri de mutații (G1269A, L1196M, C1156Y, L1152R, S1206Y, 1151Tins, G1202R, F1174L). Inhibitorii ALK de generația a-II-a (alectinib, ceritinib, brigatinib, ensartinib) au demonstrat eficacitate superioară crizotinib și creșterea supraviețuirii la pacienții cu tumori ALK-pozitive.

Crizotinib a fost primul inhibitor ALK aprobat de FDA, în 2015, pentru NSCLC avansat.

Deși crizotinib crește supraviețuirea la pacienții cu NSCLC, cei mai mulți pacienți dezvoltă rezistență



La sfârșitul anului 2017, rezultatele studiului ALEX demonstau superioritatea tratamentului cu alectinib în ceea ce privește supraviețuirea fără progresia bolii și supraviețuirea generală, față de prima generație de inhibitori ALK. **Alectinib** este un inhibitor ALK și RET, care a demonstrat eficacitate contra mai multor mutații ALK ce determină rezistență la crizotinib (L1196M, G1269A, C1156Y, F1174L, 1151Tins, L1152R). În decembrie 2017, Comisia Europeană a aprobat alectinib ca monoterapie de linia I pentru pacienții cu NSCLC avansat, ALK pozitiv¹⁸.

În cadrul Congresului Societății Americane de Oncologie Clinică, ASCO 2020, a fost prezentă o analiză la 5 ani a studiului ALEX, primul studiu global randomizat care a demonstrat beneficii pe termen lung în ceea ce privește supraviețuirea globală la pacienții cu NSCLC ALK pozitiv, tratați cu alectinib. Rata de supraviețuire la 5 ani a fost de 62,5% în grupul care a primit alectinib și de 45,5% în grupul tratat cu crizotinib. Rezultatele studiului subliniază beneficiul tratamentului cu alectinib pentru pacienții cu metastaze ale SNC – 42% reducere a riscului de deces în comparație cu crizotinib, respectiv 24% reducere a riscului de deces la pacienții fără metastaze ale SNC¹⁹.

Ceritinib este un inhibitor ALK de generația a II-a de 20 de ori mai potent decât crizotinib, cu eficacitate în mutațiile ALK ce apar după expunerea la crizotinib, cu excepția mutațiilor G1202R și F1174C. Ceritinib a fost aprobat de FDA în 2014 ca tratament de linia II și în 2017 ca tratament de linia I. La nivel UE, ceritinib a primit aprobare în iunie 2017, în linia I²⁰.

Metastazele la nivelul sistemului nervos central (SNC) sunt prezente la momentul diagnosticului la 30% dintre pacienții cu NSCLC, ALK pozitiv. SNC reprezintă principala localizare a recăderilor pentru pacienții tratați cu crizotinib. Brigatinib și lorlatinib au fost dezvoltate pentru a inhiba mutațiile ALK ce conferă rezistență la generațiile anterioare de terapii țintite și pentru a penetra bariera hemato-encefalică²¹.

Brigatinib este un inhibitor tirozin kinazic de generația a II-a care inhibă fuziunile ALK, mutațiile EGFR L858R și fuziunile ROS1. Brigatinib este eficient contra tuturor celor 17 mutații cunoscute de rezistență ALK (inclusiv G1202R și L1196M)²². În 2017 a primit aprobare accelerată din partea FDA pentru pacienții cu NSCLC care au progresat în urma tratamentului cu crizotinib. În mai 2020 a fost aprobat pentru linia I de tratament la pacienții cu NSCLC metastatic.

18 <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2017-12-21.htm>

19 <https://www.onclive.com/view/asco-new-data-for-alecensa-shows-5year-overall-survival-in-alkpositive-nsclc>

20 <https://www.novartis.com/news/media-releases/novartis-receives-eu-approval-first-line-use-zykadia-alk-positive-advanced-non-small-cell-lung-cancer-nsclc>

21 <https://academic.oup.com/jjco/article/51/1/37/5956166#220401242>

22 <https://academic.oup.com/jjco/article/51/1/37/5956166#220401207>

Lorlatinib este un inhibitor ALK și ROS1 de generația a III-a, care a fost dezvoltat pornind de la crizotinib, pentru a pătrunde la nivelul barierei hemato-encefalice. Cercetările in vivo și in vitro au arătat activitate antitumorală contra variantelor ALK ce prezintă inclusiv mutații dobândite cum ar fi G1202, care determină rezistență la crizotinib și alți inhibitori ALK. În 2018, FDA a aprobat lorlatinib pentru NSCLC metastatic, în liniile II și III de tratament, iar în mai 2019, Comisia Europeană a aprobat terapia pentru aceeași indicație. În martie 2021, FDA a extins aprobarea pentru linia I de tratament a NSCLC metastatic, ALK pozitiv, alături de testul companion diagnostic Ventana ALK (D5F3) CDx Assay²³.

VII. DIRECȚII DE VIITOR

Numărul de mutații acționabile în NSCLC este în plină expansiune, anul 2020 fiind unul de referință.

În luna mai 2020, inhibitorul RET, selpercatinib (Retevmo), a devenit prima terapie specifică aprobată de FDA pentru NSCLC cu fuziuni RET. În februarie 2021, terapia țintită a primit aprobare și din partea Agenției Europene a Medicamentului²⁴. Pacienții cu NSCLC și fuziuni RET pot fi, de asemenea, tratați cu inhibitorul selectiv al RET kinazei, **pralsetinib** (Gavreto), care a obținut aprobarea accelerată din partea FDA în septembrie 2020 pentru tratamentul pacienților cu NSCLC RET-pozitiv. Până la aceste terapii țintite, pacienții cu fuziuni RET erau tratați cu chimioterapie pe bază de platină sau inhibitori multikinazici, care erau asociați cu multiple reacții adverse²⁵.

În luna mai 2020, FDA a aprobat și **capmatinib** (Tabrecta), un inhibitor selectiv al receptorului MET, pentru utilizare la pacienții cu tumori NSCLC care prezintă mutații METexon14.

În 2021, FDA a aprobat sotorasib, prima terapie țintită pentru cancere pulmonare care prezintă mutații la nivelul KRAS, considerată timp de 40 de ani o țintă neacționabilă. Încercările de a ținti KRAS s-au lovit de limitări, aceasta fiind considerată un marker al rezistenței la tratament²⁶. KRAS G12C, mutația pe care o țintește sotorasib, reprezintă în jur de 13% dintre mutațiile care apar în NSCLC.

Mutațiile MET apar la 2-6% din cancerele pulmonare, rearanjamentele RET apar la 2% din cazuri, iar mutațiile KRAS apar la 25% dintre pacienții cu NSCLC.

În luna mai 2020, inhibitorul RET, selpercatinib (Retevmo), a devenit prima terapie specifică aprobată de FDA pentru NSCLC cu fuziuni RET. În februarie 2021, terapia țintită a primit aprobare și din partea Agenției Europene a Medicamentului

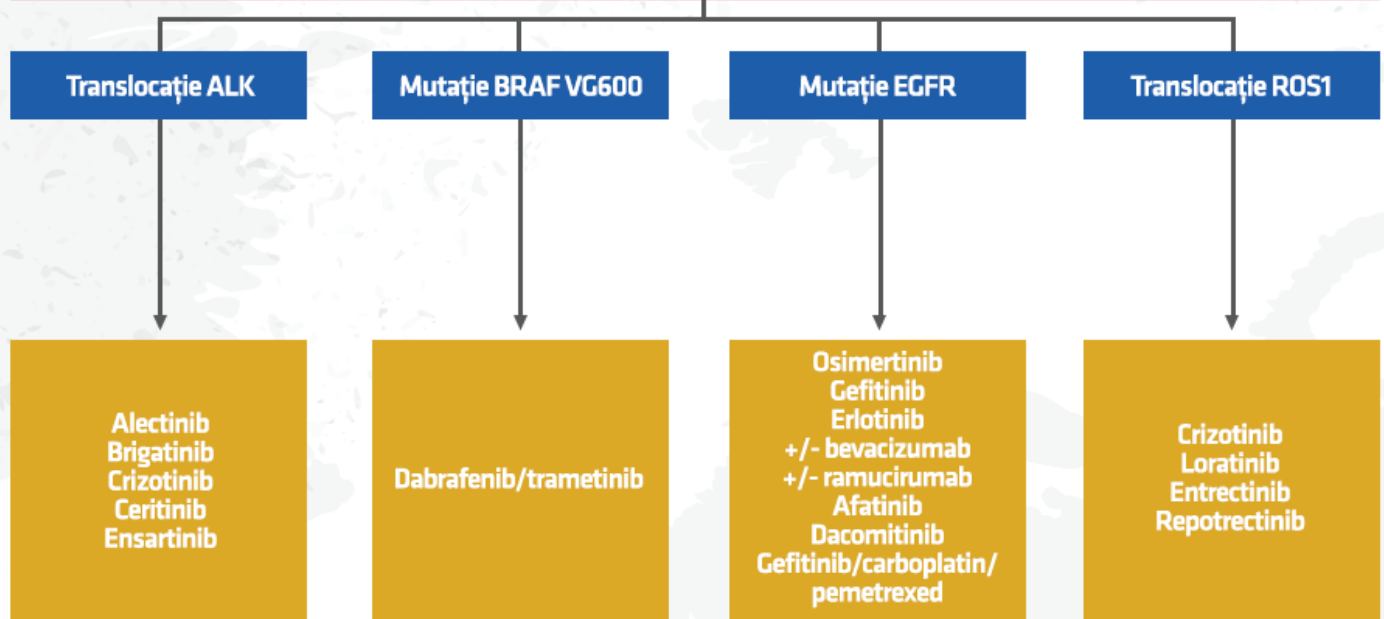
²³ <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-lorlatinib-metastatic-alk-positive-nsclc>

²⁴ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7820024/>

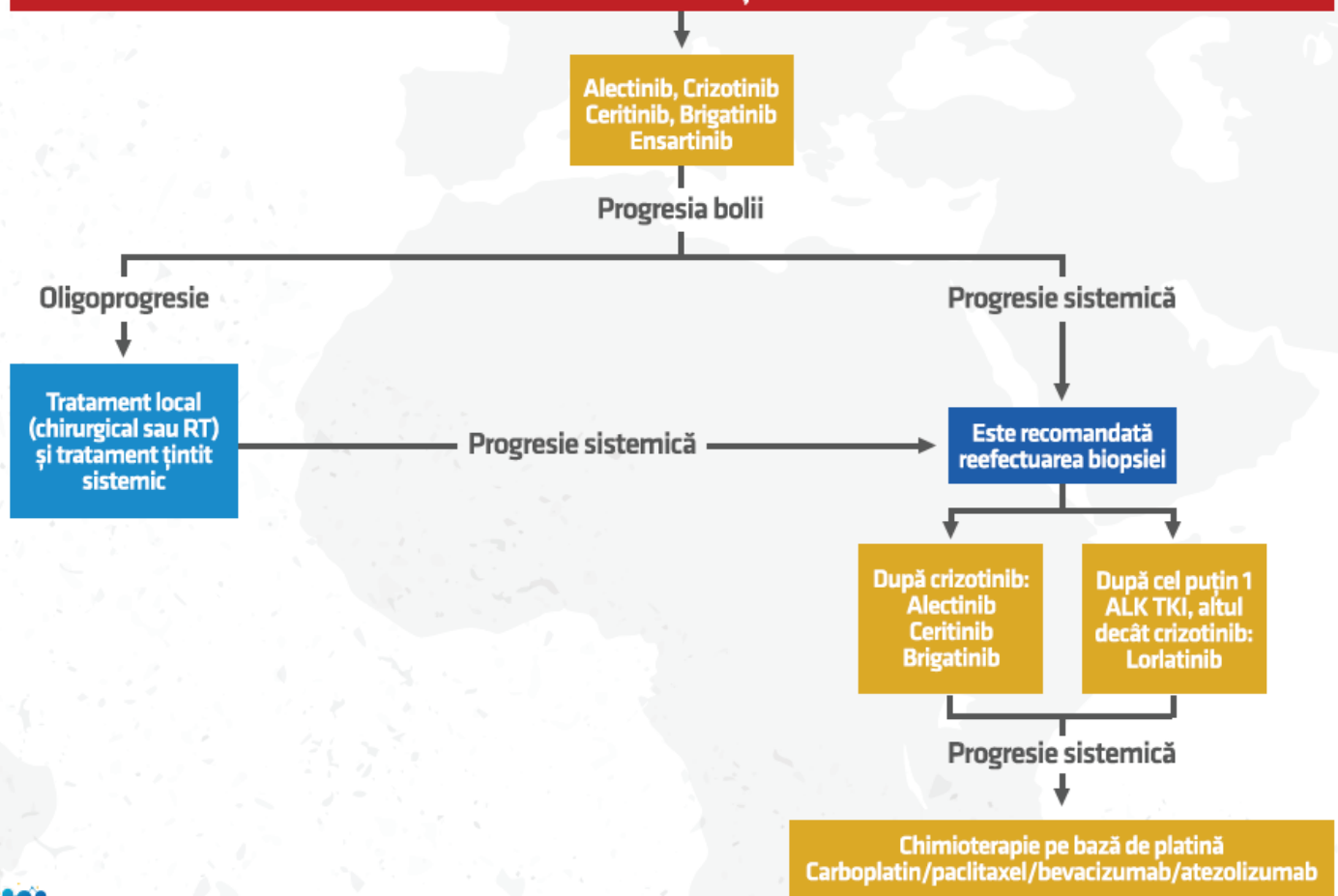
²⁵ <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-pralsetinib-lung-cancer-ret-gene-fusions>

²⁶ <https://link.springer.com/article/10.1007/s10555-020-09919-1>

GHID ESMO 2020: ALGORITMUL DE TRATAMENT PENTRU NSCLC, STADIUL IV, POZITIV PENTRU ALK/BRAF/EGFR/ROS1



GHID ESMO 2020: ALGORITMUL DE TRATAMENT PENTRU NSCLC, STADIUL IV, CU TRANSLOCAȚII ALK



Împreună, acestea pot ajunge până la 40% din totalitatea adenocarcinomelor pulmonare, iar recent ele au fost validate ca ținte terapeutice, având un tratament aprobat sau studii în derulare. Dacă se adaugă alte mutații precum EGFR, ALK, ROS1 și BRAF, gama de anomalii care au soluție terapeutică astăzi în cancerul pulmonar este semnificativă, iar implicațiile sunt majore mai ales în ceea ce privește nevoia diagnosticul comprehensiv, de la început²⁷.

În 2021, FDA a aprobat sotorasib, prima terapie țintită pentru cancere pulmonare care prezintă mutații la nivelul KRAS, considerată timp de 40 de ani o țintă neacționabilă.

VIII. RECOMANDĂRI PENTRU ROMÂNIA

Situația actuală

În acest moment, testarea ALK este prevăzută în protocoalele de prescriere pentru medicamentele care au fost introduse în compensare în sistemul asigurărilor de sănătate prin intermediul contractelor cost-volum pentru crizotinib și alectinib, de către Casa Națională de Asigurări de Sănătate. La acest moment, nu există un program sau subprogram la nivelul CNAS prin care să se deruleze testarea biomarkerului ALK, iar costul testării ALK la pacienții cu cancer pulmonar este asigurat de deținătorii autorizațiilor de punere pe piață pentru medicamentele a căror prescriere se corelează cu ALK.

Recomandări

- Strategia Națională de Sănătate 2021-2027 să includă ca priorități controlul cancerului și implementarea asistenței medicale personalizate pentru bolnavul oncologic, inclusiv testarea reflexă a biomarkerilor relevanți
- Planul Național pentru Controlul Cancerului să fie dezvoltat, aprobat și implementat în concordanță cu Planul European de Luptă împotriva Cancerului, care menționează explicit și extensiv rolului medicinei personalizate (de precizie)
- Programul Național de Oncologie derulat și finanțat de CNAS să includă un subprogram pentru finanțarea testării biomarkerilor relevanți, inclusiv ALK
- Crearea unei rețele naționale de laboratoare de referință pentru testarea biomarkerilor prin metodele recomandate de ghidurile și protocoalele internaționale
- Elaborarea unui protocol unic de testare a biomarkerilor, inclusiv ALK, pentru cancerul pulmonar non-microcelular
- Derularea, de către societățile profesionale, asociațiile pacienților, universități și alte organizații de proiecte educaționale pe tema medicinei personalizate în oncologie, adresate medicilor și pacienților, cu focus pe testarea biomarkerilor și, în particular, testarea ALK.

²⁷ <https://www.onclive.com/view/agents-targeting-met-ret-and-previously-undruggable-kras-advance-treatment-in-nscl>



Proiect dezvoltat de Centrul pentru Inovație în
Medicină și susținut de Roche Diagnostics.

Pentru detalii suplimentare:

Dr. Marius Geantă

Președinte Centrul pentru Inovație în Medicină

Email: marius.geanta@ino-med.ro

Telefon: 0745.020.878



InoMed

Centrul pentru inovație
în medicină



Carta albă

a

Biomarkerilor în cancerul pulmonar non-microcelular



2021

