LABORATORY OF
EXPERIMENTAL
MEDICINE

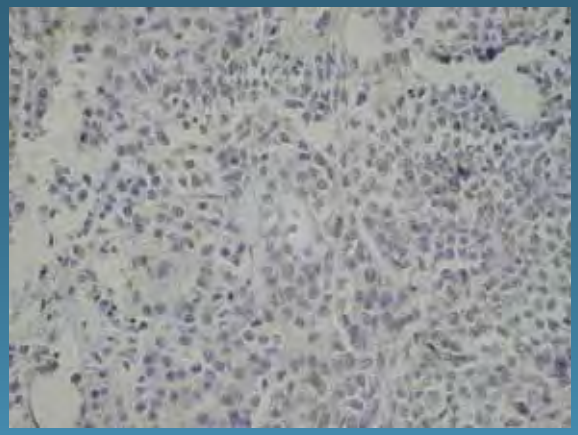
Ohlédnutí se za diagnostikou statusu genu HER-2 a řešení systému onkologické prediktivní diagnostiky v České republice

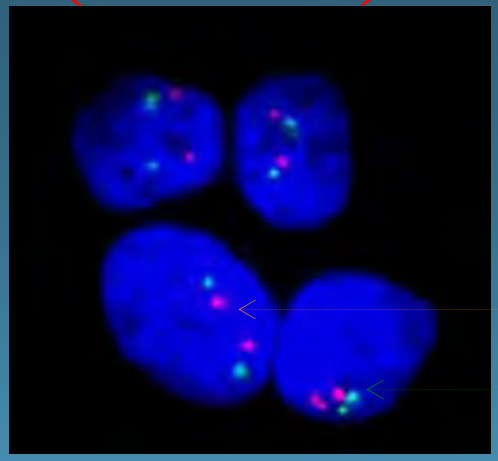
Marián Hajdúch

Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

www.lem.ocol.cz
marian.hajduch@fnol.cz

Vyšetření Her-2/neu (c-erbB-2): IHC x FISH

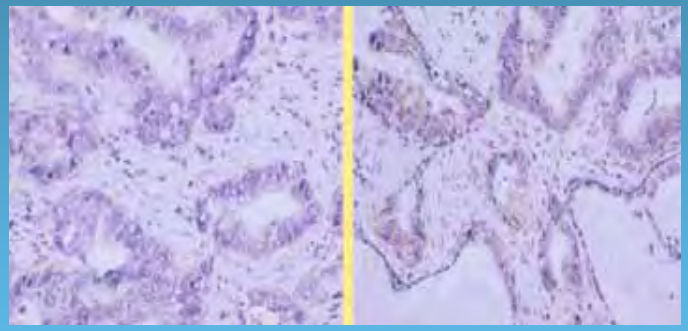


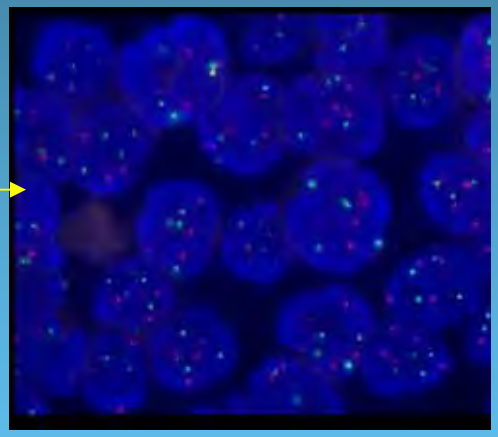


IHC:0
FISH: normální

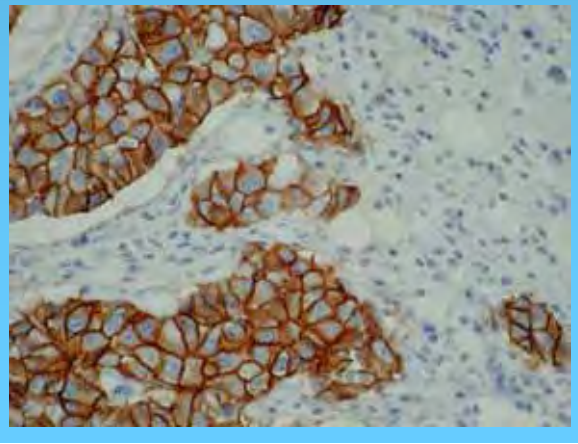
Her-2/neu

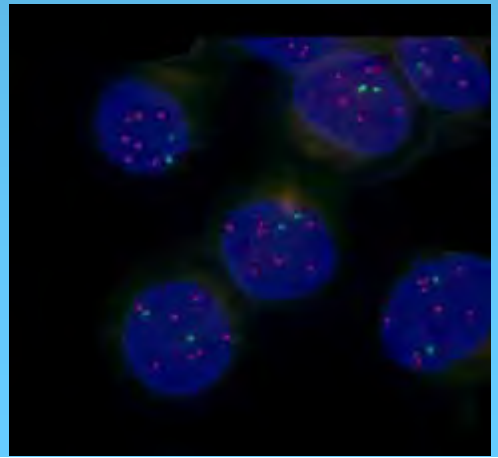
CEP 17





IHC: 1+ až 2+
FISH: normální
nepravá amp.
amplifikace



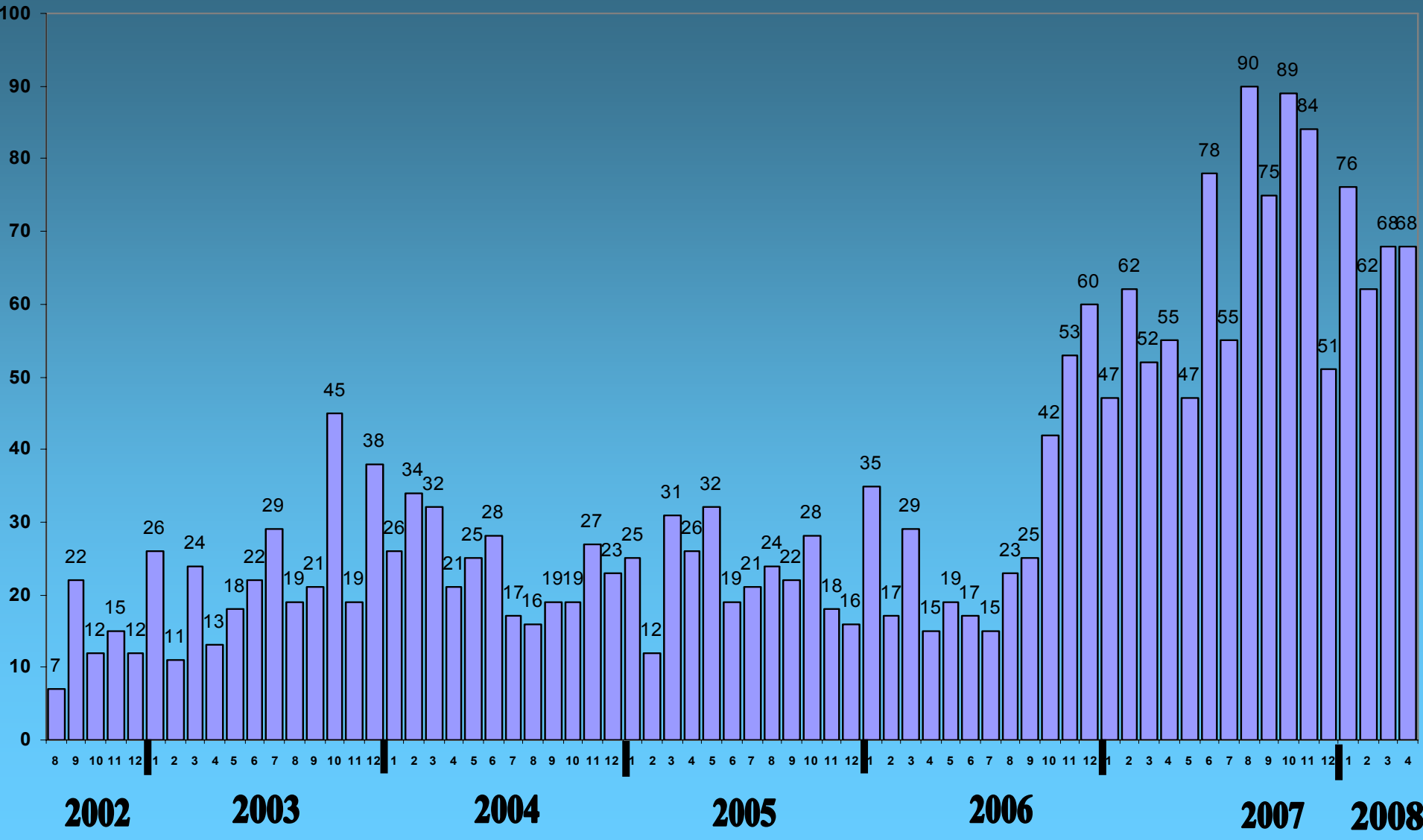


IHC: 3+
FISH: amplifikace

IHC fotografie byly získány ve spolupráci s Ústavem patologie LF UP

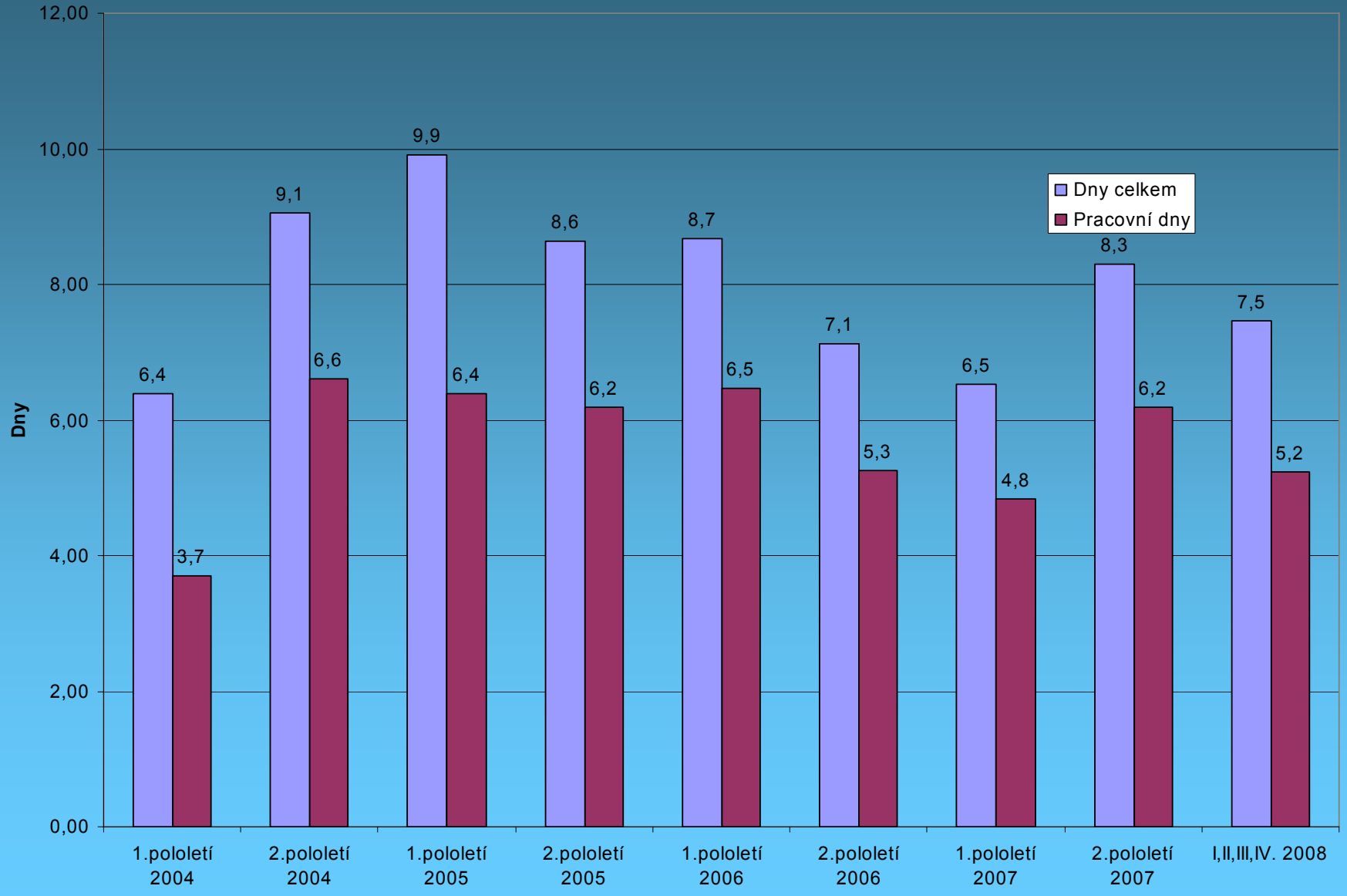
LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Počet pacientek vyšetřených v Referenční laboratoři



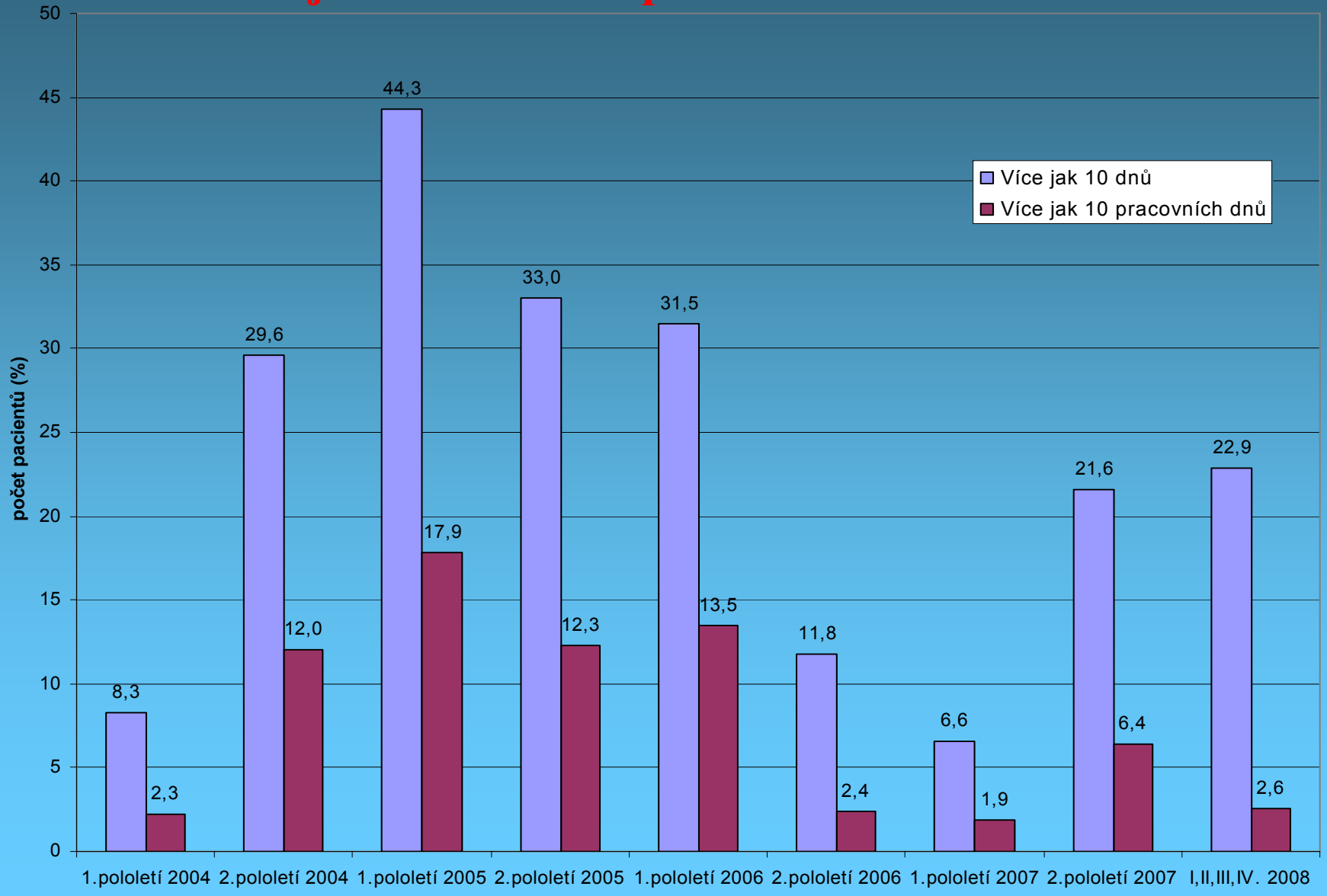
LABORATORY OF
EXPERIMENTAL
MEDICINE

Délka vyšetření v RL



LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Počet pacientů vyšetřovaných v RL déle jak 10 dnů a 10 pracovních dnů



LABORATORY OF
EXPERIMENTAL
MEDICINE

Míra shody v RL, mezi IHC a FISH vyšetřením.

		0-6 měsíců (%)	7-12 měsíců (%)	13-18 měsíců (%)	19-24 měsíců (%)	25-30 měsíců (%)	31-36 měsíců (%)	37-42 měsíců (%)	43-48 měsíců (%)	49-54 měsíců (%)	55-60 měsíců (%)	61-66 měsíců (%)	67-70 měsíců (%)	0-70 měsíců (%)
IHC 0 / FISH negativní		**75,00**	**93,33**	**89,29**	**87,50**	**95,23**	**81,60**	**100,0**	**100,0**	**87,88**	**96,47**	**97,62**	**97,56**	**96,19**
IHC 3+ / FISH pozitivní	H/C=1.5 -2.0	9,52	2,04	0,00	1,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	3,24	0,72	1,59
	H/C>2.0	85,71	97,96	97,78	97,44	100,0	97,50	100,0	100,0	98,23	98,20	94,44	96,37	96,64
	Σ	**95,23**	**100,0**	**97,78**	**98,72**	**100,0**	**97,50**	**100,0**	**100,0**	**98,23**	**100,0**	**97,68**	**97,10**	**98,23**

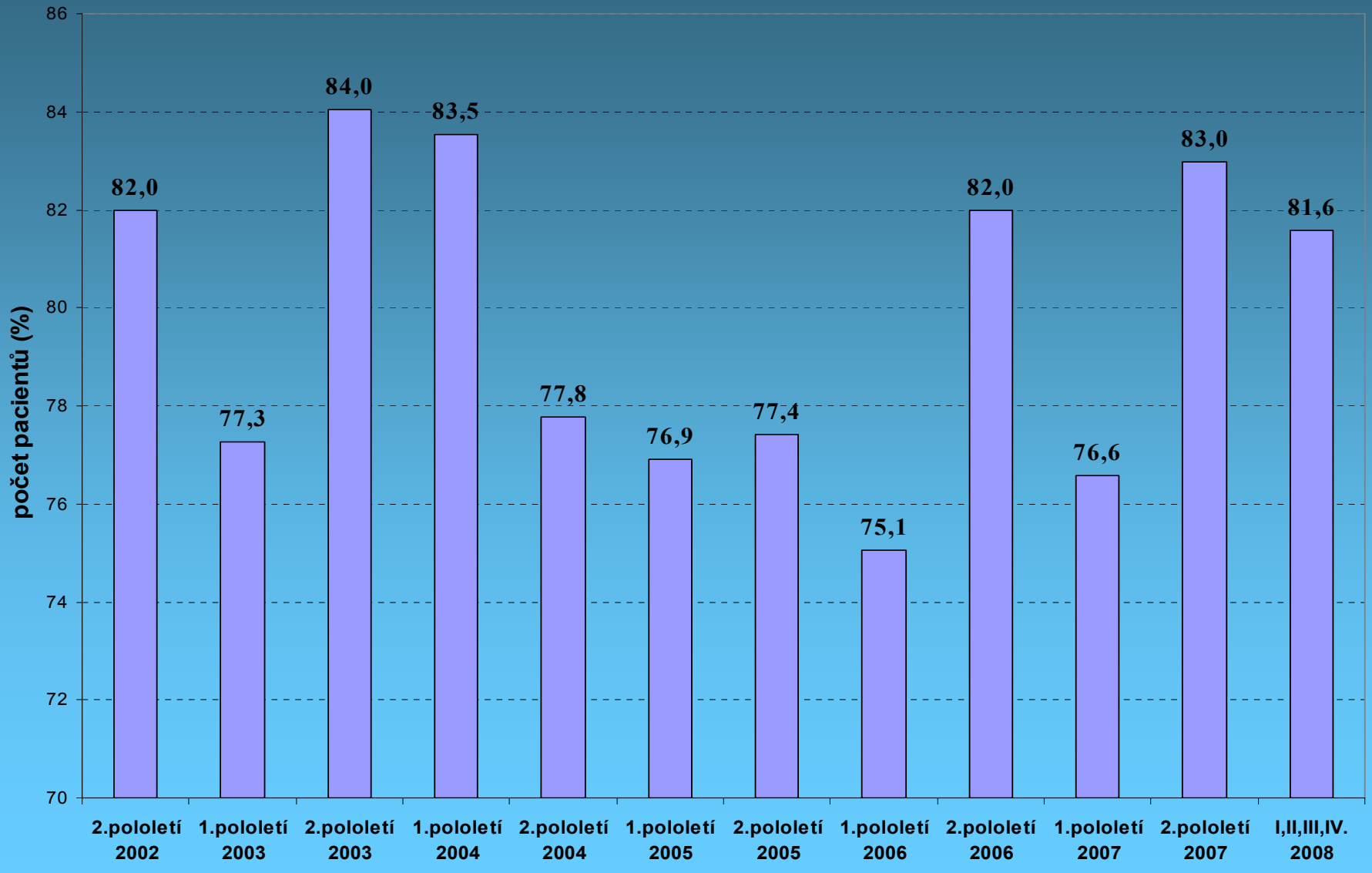
LABORATORY OF
EXPERIMENTAL
MEDICINE

Detekované neshody mezi RL a LLs >1 nebo >2 IHC stupně, v průběhu existence RL

Neshoda RL vs. LLs	0-6 měsíců (%)	7-12 měsíců (%)	13-18 měsíců (%)	19-24 měsíců (%)	25-30 měsíců (%)	31-36 měsíců (%)	37-42 měsíců (%)	43-48 měsíců (%)	49-54 měsíců (%)	55-60 měsíců (%)	61-66 měsíců (%)	67-70 měsíců (%)	**0-70 měsíců (%)**
>2 IHC	14,08	19,51	12,59	19,33	31,52	36,99	22,11	22,92	35,29	24,18	20,46	22,66	**21,98**
>1 IHC	28,17	43,90	37,04	40,34	50,00	53,42	40,00	43,75	52,94	40,57	36,90	38,42	**40,37**

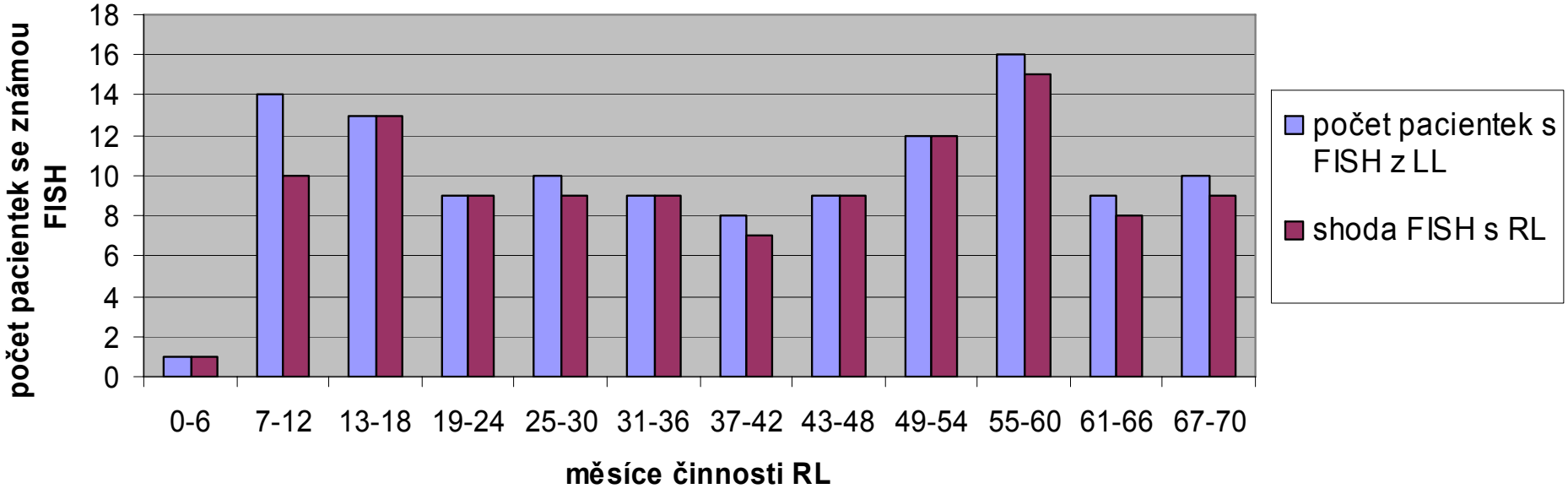
LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Počet IHC pozitivních pacientů ze spádu (3+), s potvrzenou pozitivitou v RL



LABORATORY OF
EXPERIMENTAL
MEDICINE

Počet pacientek vyšetřených v Referenční laboratoři se známou FISH ze spádu



LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Počet pacientek (%), které nebylo možno vyšetřit (IHC nebo FISH)

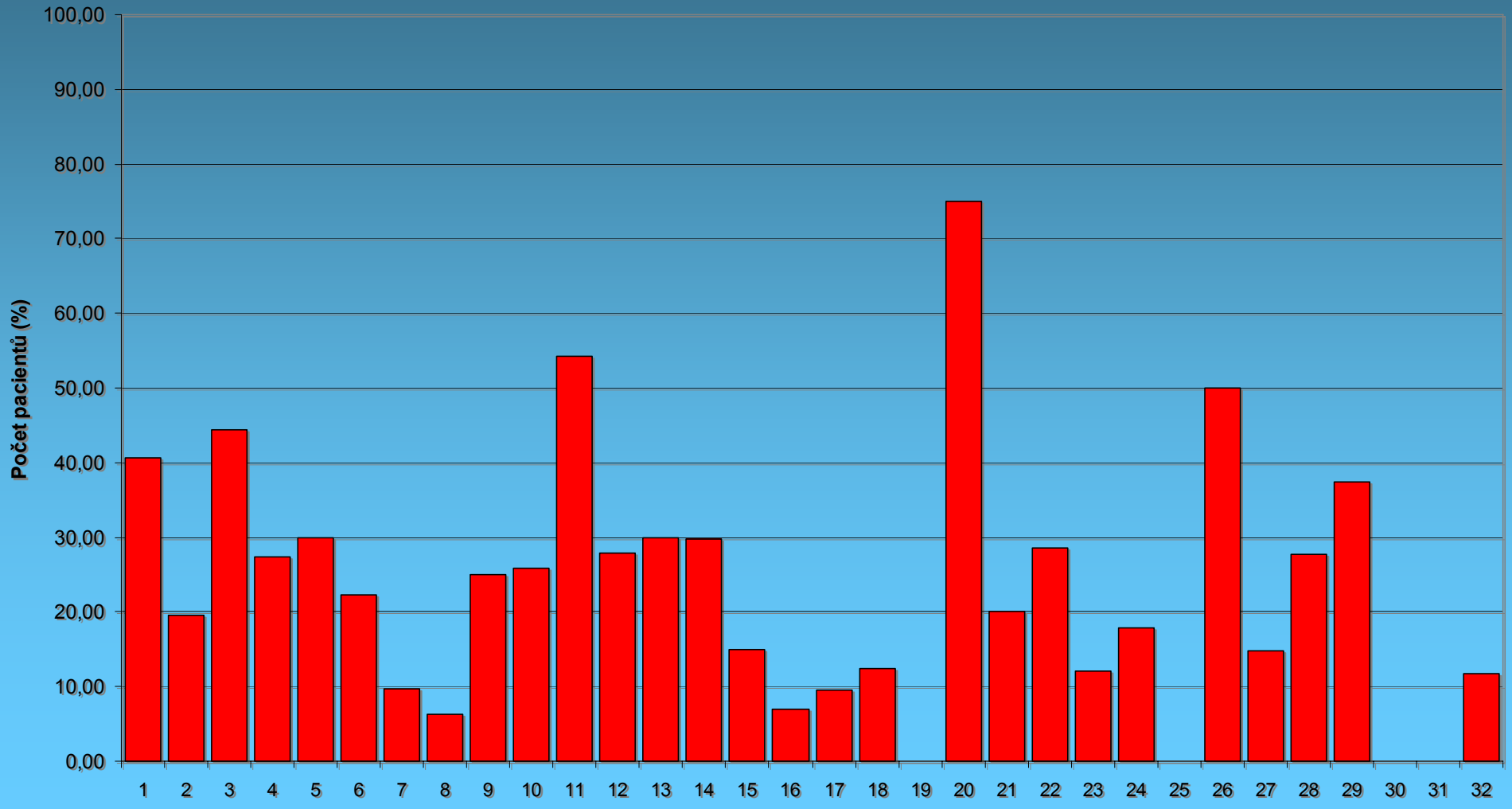
		ze spádu		V RL	
měsíce	**počet pac.**	**známé IHC (%)**	**neznámé IHC (%)**	**nelze IHC (%)**	**nelze FISH (%)**
0-6	90	78,89	21,11	15,56	2,22
7-12	113	72,57	27,43	0	1,77
13-18	172	78,49	21,51	0,58	3,49
19-24	166	71,69	28,31	0,6	4,22
25-30	121	76,03	23,97	2,48	4,96
31-36	147	74,15	25,85	2,04	4,77
37-42	129	73,64	26,36	3,88	4,65
43-48	121	79,33	20,66	0	8,26
49-54	218	70,18	29,82	0,46	5,5
55-60	336	70,53	29,46	0,6	5,35
61-66	410	72,68	27,32	0,98	6,34
67-70	272	74,63	25,37	1,1	5,14
0-70	2295	73,64	26,36	1,61	5,05

LABORATOŘ
EXPERIMENTÁLNÍ
MEDICÍNY

Rozdíl v IHC ≥ 2 stupně (spád vs. RL)

(u pracovišť, která zaslala alespoň 20 pacientů)

CHYBOVOST >37,5% JE ROVNA NÁHODNÉMU VÝBĚRU



LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Jak dál v testování Her-2?

• Chybovost vyšetření v IHC zůstává dlouhodobě stabilní, přes 22% vzorků se liší o více než 2 IHC stupně, 20% chybovost je i ve skupině diagnosticky jasné (3+) - zachování druhého čtení nebo koncentrace vyšetření na několik pracovišť!

•Mimořádně vysoké riziko falešně negativních vzorků v primárním screeningu (pouze 13% Her-2+ pacientek v ČR, 22% v SR), tyto pacientky vypadnou z indikačních kritérií - potřeba zavedení systému externí kontroly kvality, ideálně v kombinaci s registrem HER-2 pozitivních pacientek.

LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Koncepce Laboratoří prediktivní onkologie

• Laboratoře vzniknou jako mezioborová pracoviště (patologové, genetici a případně i další odbornosti) s vazbou na stávající Komplexní onkologická centra a stávající pracoviště.

•Laboratoře budou provádět nejnáročnější a nejnákladnější diagnostiku v oblasti prediktivní onkologie, která bude využívaná pro indikaci nákladné onkologické péče. V současnosti se jedná o predikci léčebné odpovědi na inhibitory genu HER-2 a EGFR1, do budoucna se počítá dle potřeby i s dalšími pracovišti a prediktory, které budou každoročně aktualizovány dohodou odborných společností a plátců péče v seznamu doporučených prediktivních vyšetření nádorů v „**Zásadách cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění**“ pro daný rok.

•LPO budou provádět vyšetření IHC certifikovaným diagnostickým systémem, FISH, případně další vyšetření. Vyšetření FISH nebude pracovištím mimo LPO hrazeno nad rámec stávajících plateb.

LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Koncepce Laboratoří prediktivní onkologie

• Způsob úhrady bude v roce 2008 založený na zohlednění navýšení výkonů v paušální platbě podle počtu vykázaných rodných čísel (signálních kódů) ke konci roku 2008. Pro rok 2009 pak odborné společnosti vypracují návrh nových kódů do Sazebníku výkonů, který bude respektovat reálné náklady vyšetření a tyto kódy pak budou pro LPO nasmlouvány jako nová kapacita (včetně mutací KRAS).

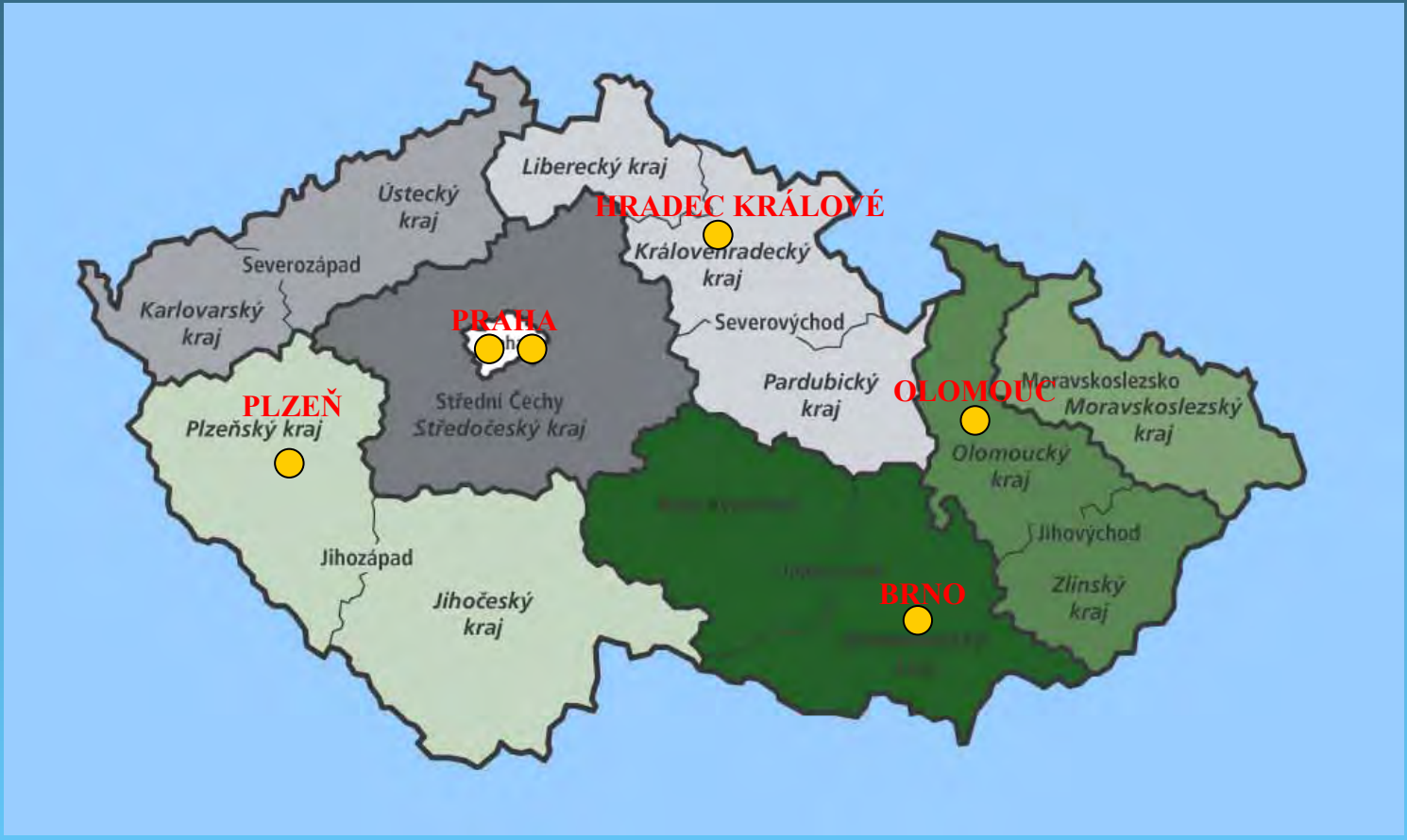
•Celkový počet pracovišť by se měl blížit k číslu 5-6 s odůvodněním (alespoň 200-300 vyšetření na pracoviště oběma metodami FISH i IHC).

•Klíčovou podmínkou pro zachování kvality prováděných vyšetření je **akreditace LPO dle normy, která vyžaduje interní i *externí kontrolu kvality a pravidelné audity*** (např. dle norem ČSN/ISO 17025 nebo 15189). Laboratoře prediktivní onkologie, které nejsou v současnosti akreditovány, budou mít za povinnost získat akreditační osvědčení nejpozději do jednoho roku, počínaje 1. dubnem 2008.

•V řešení je vznik registru HER-2 pozitivních pacientek.

•V řešení je nastavení systému externí kontroly kvality pro všechna pracoviště provádějící IHC/FISH ve spádu (SP ČLS JEP).

Návrh umístění Laboratoří prediktivní onkologie v ČR



Úhrada prediktivní diagnostiky

- Kódy VZP pro laboratoře prediktivní onkologie, které budou nasmlouvány s **účinností od 1.4.2008** vybraným laboratořím:
  - Kód výkonu **87698** - identifikace RČ pac. vyšetřeného **imunohistochemicky** v rámci prediktivní onkodiagnostiky u nádoru prsu
  - Kód výkonu **87699** - identifikace RČ pac. vyšetřeného metodou **FISH** v rámci prediktivní onkodiagnostiky u nádoru prsu

- **Podmínky nasmlouvání:** výkony budou nasmlouvány 6 laboratořím, jejichž výběr byl proveden odbornou Společností patologů za dodržení stanovených kriterií (splnění VTP,požádáno o akreditaci s tím, že završení procesu akreditace bude splněno do roka- tedy do 1.4.2009):
  - Bioptická laboratoř, s.r.o.,Mikulášské nám. 4, 326 00 Plzeň
  - Fingerlandův ústav patologie, FN Hradec králové
  - Referenční laboratoř pro stanovení c-erb B2 LF UP, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
  - Masarykův onkologický ústav, Patologicko-anatomické oddělení , Žlutý kopec 7, 656 53 Brno
  - Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FNM, V Úvalu 84,150 00 Praha 5 - Motol
  - Ústav patologie 1. LF UK a VFN,Studničkova 2,128 00 Praha 2

LABORATORY OF EXPERIMENTAL MEDICINE

Jak dál s referenční diagnostikou?

Návrh doporučených prediktivních vyšetření nádorů do „Zásad cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění“ pro rok 2007/2008.

Antihormonální léčba karcinomu prsu

Nepodkročitelné minimum:

IHC vyšetření ER a PR v nádorové tkáni, nukleární positivita alespoň 10% nádorových buněk. Predikce antihormonální léčby při 1-10% pozitivitě je nejistá.

Doporučená vyšetření:

Stanovení ER/PR receptorů ligand-vazebným testem.

IHC vyšetření bcl-2, pozitivita odráží funkčnost ER dráhy.

Vyšetření amplifikace genu pro cyklin D1 – pozitivní nádory mají preferenční účinnost inhibitorů aromatázy.

Cílená léčba anti-Her-2 (trastuzumab) u karcinomu prsu

Nepodkročitelné minimum:

IHC vyšetření Her-2/neu, positivita 2+ nebo 3+, vždy konfirmovat FISH.

Anebo FISH positivní nádor s poměrem kopií genu Her-2/neu k chromozómu 17 >1.8, pozitivitu je nutné konfirmovat IHC.

K indikaci léčby trastuzumabem je vyžadováno referenční (druhé) čtení.

Doporučená vyšetření:

Amplifikace genu TOP2A / pozitivní nádory mají preferenční odpověď na kombinace trastuzumabu s antracyklinovým režimem, je-li tato kombinace klinicky možná.

U pacientek s polyzomickým nálezem na chromozómu 17 vyšetření počtu kopií jinou sondou.

U nádorů kde nelze FISH provést z technických důvodů lze stanovit počet kopií technikou kvantitativní real-time PCR.

Cílená léčba anti-EGFR1 (erlotinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu

Doporučená vyšetření:

Amplifikace EGFR1 nebo vysoká polyzomie chromozómu 7 – pacienti mají preferenční odpověď na erlotinib.

Aktivační mutace EGFR1 v exonu 19 a 21 - pacienti mají preferenční odpověď na erlotinib a lepší prognózu.

Aktivační mutace KRAS v exonu 1, kodon 12 a 13 – pacienti nemají odpověď na inhibitory EGFR1.

Cílená léčba anti-EGFR1 (cetuximab) u kolorektálního karcinomu

Nepodkročitelné minimum:

Exprese EGFR1 IHC, je požadována alespoň slabá pozitivita nádorových buněk

Doporučená vyšetření:

Amplifikace EGFR1 nebo vysoká polyzomie chromozómu 7 – pacienti mají preferenční odpověď na cetuximab.

Aktivační mutace KRAS v exonu 1, kodon 12 a 13 – pacienti nemají odpověď na inhibitory EGFR1.

Přítomnost EGFRvIII technikou IHC nebo PCR – negativní prediktor odpovědi, chybí vazebná doména pro cetuximab.

Nové kódy od roku 2009 v přípravě

- **Fluorescenční in situ hybridizace lidské DNA se značenou sondou za účelem indikace cílené protinádorové léčby.**
- **Kvantitativní PCR reakce na cykléru s měřením v reálném čase za účelem indikace cílené protinádorové léčby.**
- **Imunohistochemické vyšetření exprese proteinu za účelem indikace cílené protinádorové léčby.**
- **Tkáňová mikrodisekce za účelem molekulárního vyšetření pro indikaci cílené protinádorové léčby.**

DĚKUJI ZA POZORNOST
A SPOLUPRÁCI!