27 Paradigma predikce odpovědi na inhibitory HER rodiny u nádorových onemocnění různého histogenetického původu: více indikací, více léčiv, ale téměř shodné prediktory.

Hajdúch M.[1], Berkovcová J.[1], Trojanec R.[1], Dziechciarková M.[1], Radová L.[1], Janošťáková A.[1], Mlčochová S.[1], Wiecek S.[1], Staňková M.[2], Grygárková Y.[3], Kolek V.[3], Cwiertka K.[4], Kiss I.[5], Radzioch D.[5], Kolář Z. 7, Škarda J.[7], Minárik M.[8], Mihál V.[1]

1) Laboratoř experimentální medicíny, Dětská klinika, LF UP a FN v Olomouci
2) Genetica, s.r.o., Praha
3) Klinika plicních nemocí a tuberkulózy, LF UP a FN v Olomouci
4) Onkologické klinika LF UP a FN v Olomouci
5) Oddělení klinické onkologie FN Brno
6) Department of Experimental Medicine, McGill University, Montreal, Canada
7) Ústav patologie LF UP a FN Olomouc
8) Genomac International, s.r.o., Praha

U nádorů epiteliálního původu je často detekovaná zvýšená aktivace receptoru pro epidermální růstový faktor (Egfr1). Protein Egfr1 je tak vhodnou molekulou k cílenému ovlivnění různými typy inhibitorů. Jedná se o protilátky, svým účinkem zaměřené proti vazebné doméně extracelulární části receptoru, např. cetuximab. Druhou skupinou látek s inhibičním účinkem jsou nízkomolekulární terapeutika prostupující buněčnou membránu, např. Iressa a Tarceva. Jedná se o nákladnou léčbu, proto je nezbytné před aplikací vyšetřit status *egfr1* genu. Často za nárůstem aktivity receptoru stojí amplifikace a overexprese genu. Výhradně u plicních karcinomů byl popsán další způsob patologické aktivace receptoru a to somatickými mutacemi v jeho tyrozinkinázové části. V případech potvrzené zvýšené aktivace Egfr1 proteinu je jeho cílená inhibice správnou volbou pro pacienta. Pokud má nádorové onemocnění příčinu v aktivaci sekundárního přenašeče signálu, je inhibice zaměřená proti receptoru neúčinná. Řada tumorů má přítomnou aktivující somatickou mutaci onkogenu *k-ras*, který exprimuje GTP-vázající protein a je za fyziologických podmínek aktivován proteinem Egfr1.

Naše pracoviště má široké zkušenosti se stanovením predikce odpovědi na inhibitory Egfr1. Byly zpracovány dvě retrospektivní studie pacientů. V prvním případě se jednalo o 146 pacientů s plicním karcinomem, kteří byli zařazeni do Programu časného přístupu a byli léčeni Iressou. Do druhé skupiny bylo zařazeno 28 pacientů s nádorem hlavy a krku, kteří byli rovněž léčeni Iressou. V současné době prospektivně vyšetřujeme pacienty s karcinomem kolorekta pro plánovanou terapii cetuximabem a pacienty s plicním karcinomem, u nichž je zamýšlena léčba erlotinibem.

Při našich vyšetření analyzujeme Egfr1 na úrovni genu i proteinu. K určení exprese užíváme imunuhistochemické stanovení pomocí myší monoklonální protilátky (Anti-humane EGFR, firmy DakoCytomation, Česká republika). Dalším běžným vyšetřením je fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) k určení počtu kopií genu *egfr1*. Při molekulárních analýzách jsou testovány geny *egfr1* a *k-ras*. Během těchto vyšetření je přistupováno k přímé sekvenaci často mutovaných úseků obou genů (exon 19 a 21 genu *egfr1* a exon 1 genu *k-ras*). Vedle klasického terminačního značení amplifikovaného řetězce s následnou automatickou kapilární elekroforézou jsou testované další metody. Především fragmentační analýza PCR produktů je snadná pro detekci delečních mutací. Dále je užívána metoda pyrosekvenování, jako vysoce senzitivní analýza při stanovení minimálního množství mutovaných molekul v testovaném materiálu. Rovněž vysokou senzitivitu má metoda *real time* PCR s využitím PNA oligonukleotidů, která je vhodná pro detekci jednotlivých mutací.

Pro správný závěr vyšetření a stanovení predikce odpovědi na léčbu je nutné především molekulární analýzy zacílit přímo na nádorové buňky, případně používat metody s dostatečnou senzitivitou, při kterých kontaminace nenádorovou DNA neovlivní výsledek. Stejně zásadní je i načasování odběru materiálu, neboť díky nestabilitě genomu tumorových buněk často dochází ke změnám biologických vlastností s progresí nádorového onemocnění.

Práce podporována výzkumným záměrem MŠMT 6198959216,
granty LC07017, MPO 1H-PK/45, IGA MZČR NR8335 a NR/9076.