

## 37. PREDIKTIVNÍ VYŠETŘENÍ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

### Hormonální léčba karcinomu prsu

#### Nepodkročitelné minimum:

- HC vyšetření ER a PR v nádorové tkáni u všech nově diagnostikovaných invazivních karcinomů, hranice nukleární positivity je 1 % nádorových buněk. Predikce hormonální léčby při 1–10 % pozitivitě ER je nejistá. Negativita PR indikuje horší odpověď na hormonální léčbu.
- Stanovení proliferačního indexu Ki67. Nádory s nízkým proliferačním indexem (hranice stanovena vyšetřující laboratoří v rozmezí 10–20 %) mají nižší senzitivitu k chemoterapii a lepší dlouhodobou prognózu.

#### Doporučená vyšetření:

- Vyšetření amplifikace genu pro cyklin D1 – pozitivní nádory mají preferenční účinnost inhibitorů aromatázy – na vyžádání onkologa.
- IHC vyšetření ER a PR v nádorové tkáni duktálních karcinomů in situ – na vyžádání onkologa.

### Cílená léčba anti-Her2 u karcinomu prsu; k indikaci anti-HER2 léčby (trastuzumab, lapatinib, pertuzumab) je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

#### Nepodkročitelné minimum:

- vyšetření HER-2/neu se provádí automaticky u všech nově diagnostikovaných invazivních karcinomů metodou IHC/ ISH:

#### HER2 core cut

Primární laboratoře provádějí standardní IHC; případy 2+ a 3+ a případy negativní (0, 1+) se zvýšenou pravděpodobností diskordantního fenotypu\* se zasílají do RL:

- Nádory se ztrátou exprese jednoho z receptorů (ER nebo PR) a současně jiné než tubulární, lobulární, mucinózní nebo papilární jsou zaslány do referenční laboratoře na základě indikace onkologa.
- Nádory se ztrátou exprese obou receptorů (ER a PR) – tj. triple negativní a současně jiné než tubulární, lobulární, mucinózní nebo papilární jsou zaslány do referenční laboratoře automaticky.

Referenční laboratoře – vždy IHC certifikovaným kitem, další postup závisí na výsledku tohoto vyšetření:

- a) případy 3+ jsou považovány za pozitivní a dále se ISH netestují,
- b) případy 2+ se automaticky vždy došetří ISH
- c) případy negativní (0 a 1+) se zvýšenou pravděpodobností diskordantního fenotypu dle histologického nálezu se došetří ISH:
  - c1) nádory se ztrátou exprese jednoho z receptorů (ER nebo PR) na základě indikace onkologa.
  - c2) nádory se ztrátou exprese obou receptorů (ER a PR) – tj. triple negativní – automaticky.

#### HER2 resekáty

Pokud je výsledek z core cut znám a je „definitivně pozitivní“ (tj. z RL 3+ nebo ISH+), vyšetření se neopakuje.

Pokud je výsledek z core cut znám a je negativní/sporný, platí totéž, co pro core-cut, tj: automaticky IHC v primární laboratoři, případy 2+ a 3+ a případy 0 či 1+ se zvýšenou pravděpodobností diskordantního fenotypu se automaticky zasílají do RL a zde se postupuje identicky jako u core cut. Pokud výsledek z core cut znám není, vyšetření je provedeno na žádost onkologa. Jiné metody pro stanovení HER2 (např. RT-PCR) nejsou indikovány. Výsledek vyšetření HER2 má vždy v závěru obsahovat explicitní vyjádření, zda nádor splňuje či nespĺňuje současná kritéria HER2 positivity.

## Cílená léčba anti-EGFR (erlotinib, gefitinib, afatinib, osimertinib) u nemalobuněčného plicního karcinomu – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

### Nepodkročitelné minimum:

- Provádí se vyšetření mutací v exonech 18-21 genu EGFR v době stanovení diagnózy (tedy z malých vzorků i z resekátů) automaticky v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom, NSCLC spíše adenokarcinom, NSCLC NOS) v momentě stanovení dg.
- EGFR v ostatních histologických typech je testováno na vyžádání onkologem.
- Liquid biopsy (tekutá biopsie, detekce mutací EGFR v ctDNA jako prediktoru TKI u ca plic) - vyšetření z krve indikováno u NSCLC ve dvou základních situacích:
  - 1) v případě nemožnosti vyšetření z bioptického materiálu u NSCLC při prvotním stanovení diagnózy,
  - 2) u nemocných s recidivou/progresí nádoru při léčbě TKI - detekce rezistenční mutace T790M. Zde závisí na rozhodnutí ošetřujícího onkologa, zda jako metodu první volby pro identifikaci T790M provede novou biopsii nádoru nebo odběr pro liquid biopsy (v případě, že odběr představuje vysoké riziko komplikací pro pacienta a je proto druhou volbou).
- V obou případech (1) i (2) se tekuté biopsie testují ve stejné síti RL jako mutace ve tkáni, stejnou metodou.

### Poznámky:

- a) prokázaná mutace v plazmě má stejnou prediktivní váhu pro indikaci léčby TKI, jako průkaz mutace ve tkáni.
- b) negativní výsledek v plazmě nevylučuje přítomnost mutace v nádoru. V případě, že lze provést intervenci a odebrat tkáň, mělo by následovat vyšetření ze tkáně.

## Cílená léčba inhibitory ALK resp. ROS1 kinázy (crizotinib, ceritinib, alectinib, lorlatinib, cabozantinib, entrectinib apod.) u nemalobuněčného plicního karcinomu – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

### Nepodkročitelné minimum:

#### • ALK

Standardní IHC v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom a spol.) v momentě stanovení dg: případy 3+ jsou pozitivní, dále se neověřují FISH. Případy 0 jsou negativní, dále se neověřují FISH.

Případy 1+ a 2+ jsou nejisté (cca 5 % všech testovaných), dále se automaticky ověřují FISH či molekulárními metodami (NGS, PCR). V jiných histologických typech je testování možné na vyžádání onkologem.

#### • ROS1

Standardní IHC v RL u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom a spol.) v momentě stanovení dg. Případy s jakoukoli pozitivitou 1+, 2+, 3+ se dále ověřují FISH či molekulárními metodami (NGS, PCR). Jen cytogeneticky (FISH) či molekulárně potvrzené pozitivní případy jsou považovány za definitivně pozitivní. V jiných histologických typech je testování možné na vyžádání onkologem.

## Cílená léčba u kolorektálního karcinomu – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

### Nepodkročitelné minimum:

- aktivační mutace genů rodiny RAS (KRAS a NRAS) v exonech 2, 3 a 4 – pacienti nemají odpověď na inhibitory EGFR. Testování se provádí na vyžádání onkologa. Výsledek vyšetření RAS má vždy v závěru obsahovat explicitní vyjádření, zda v nádoru byla či nebyla prokázaná mutace genu KRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a genu NRAS v kodonech 12, 13, 59, 61, 117, 146 a zda tak nádor je či není RAS wild type ve smyslu aktuálně platných indikačních kritérií anti-EGFR cílené léčby.
- aktivační mutace genu BRAF u nádorů s RAS wt – pacienti mají obecně horší prognózu a vyšetření má i prediktivní význam jak s ohledem na volbu chemoterapie, tak k indikaci BRAF inhibitorů. Vyšetření se provádí na žádost onkologa.
- vyšetření mikrosatelitní instability (MSI) analýzou DNA nebo „mismatch repair (MMR)“ proteinů imunohistochemicky: pacienti s CRC v klinickém stadiu II s nádory s vysokou MSI (defektní MMR) mají lepší prognózu, pacienti s vysokou MSI

(defektní MMR) ve stádiu IV (nebo s karcinomem rekta v neoadjuvanci) mohou být léčeni imunoterapií. Vyšetření má také screeningový význam s ohledem na Lynchovu chorobu. Vyšetření se provádí na žádost onkologa.

- Doporučuje se, vzhledem ke komplexnosti plánování strategie léčby indikovat všechna uvedená vyšetření ze vzorku kolorektálního karcinomu vždy současně.

Lze použít tzv. liquid biopsy (tekutá biopsie, detekce mutací KRAS, NRAS a BRAF v ctDNA) za obdobných podmínek, jako v případě EGFR u plic – tj. při nemožnosti testování ze tkáně nebo u progresu nádoru s podezřením na změnu mutačního stavu s možným terapeutickým dopadem.

## **Biologická léčba maligního melanomu BRAF inhibitory – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří**

### **Nepodkročitelné minimum:**

- vyšetření mutace BRAF V600 se provádí na vyžádání onkologem v referenční laboratoři.

Lze použít tzv. liquid biopsy (tekutá biopsie, detekce mutací BRAF v ctDNA) za obdobných podmínek, jako v případě EGFR u plic – tj. při nemožnosti testování ze tkáně nebo u progresu nádoru s podezřením na změnu mutačního stavu s možným terapeutickým dopadem.

## **Biologická léčba gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST)**

### **Doporučená vyšetření:**

- vyšetření mutací c-kit v exonech 9, 11, 13, 17,
  - nádory s mutacemi v exonu 11 jsou nejvíce senzitivní k terapii imatinibem,
  - nádory s mutacemi v exonu 9 jsou méně senzitivní k terapii imatinibem, ale mohou odpovídat na léčbu vysokými dávkami imatinibu a na léčbu sunitinibem (v druhé linii).
- vyšetření mutací PDGFRa v exonech 12, 14, 18,
  - nádory s mutací D842V v exonu 18 jsou rezistentní k terapii imatinibem.
- nádory wild-type – jsou méně senzitivní k terapii imatinibem.

## **Cílená léčba anti-HER-2 (trastuzumab) u karcinomu žaludku – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\***

### **Nepodkročitelné minimum:**

- vyšetření HER-2/neu se provádí na vyžádání onkologem pouze v referenční laboratoři certifikovaným kitem. IHC výsledek 3+ musí být vždy potvrzen in situ hybridizační metodou (ISH – tj. FISH, CISH nebo SISH). Případy 2+ se ISH zatím nevyšetřují a pro indikaci léčby jsou proto brány jako negativní.

## **Cílená léčba anti-HER-2 (trastuzumab) u jiných solidních nádorů než je karcinom prsu nebo žaludku – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\***

- vyšetření HER-2/neu se provádí na vyžádání onkologem pouze v referenční laboratoři certifikovaným kitem. IHC výsledek 3+ je považován za pozitivní; IHC výsledek 2+ musí být vždy potvrzen in situ hybridizační metodou (ISH – tj. FISH, CISH nebo SISH).

## **Cílená léčba anti-PDL-1 napříč diagnózami – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\***

### **Testování PD-L1 NSCLC**

Automaticky v RL u všech typů NSCLC imunohistochemický průkaz exprese PD-L1 v době diagnózy (tedy z malých vzorků i z resekátů).

### Testování PD-L1 u ostatních diagnóz

Indikace onkologem za předpokladu existence dostupné léčby, v případě existence více než jednoho typu léčby s odlišnými požadavky na metodiku testování je onkolog povinen uvést v žádance zvažovaný léčivý přípravek.

- Testování bude provedeno protilátkou /diagnostickým kitem/, schválenou a klinicky validovanou pro danou indikaci (typ a lokalizace nádoru + linie léčby + léčivý přípravek). Pro léčivý přípravek atezolizumab je nutno použít IVD test s protilátkou SP142 (aktuálně není testování hrazeno z prostředků veřejného zdravotního pojištění).
- Výsledek musí být reportován podle aktuálně platných pravidel (viz. Cesk Patol 2021; 57(3):179-180 nebo webové stránky SČP ČLS JEP <http://patologie.info/standardy/51> s použitím skórovacích systémů (TPS, CPS nebo IC) a aktuálně platných hodnot pozitivitativní hodnoty příslušných pro danou diagnózu.

### Testování somatických mutací BRCA ve tkáních karcinomu ovaria nebo pankreatu – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

#### Nepodkročitelné minimum:

Je prováděno v referenčních laboratořích na podkladě indikace onkologem k indikaci léčby PARP inhibitory.

### Cílená léčba solidních nádorů, u kterých je prokázána přestavba v genech NTRK (larotrektrinib, entrektrinib) – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

Fúzi genů NTRK v buňkách nádorové tkáně je možné detekovat řadou metod. Velmi senzitivní a specifická je metoda sekvenování nové generace (NGS), vzhledem k velmi nízké frekvenci mutací je vhodné provádět jako první metodu imunohistochemii.

- samostatné vyšetření NTRK fúzí aktuálně není hrazeno z prostředků zdravotního pojištění. Vyšetření se provádí pouze jako součást komplexního molekulárního testování výhradně na vyžádání onkologem KOC (indikace multidisciplinárním týmem) pouze v referenční laboratoři.

### Cílená léčba nádorů prsu, u kterých je prokázána mutace v genu PI3K (alpelisib) – je vyžadováno vyšetření v jedné z referenčních laboratoří\*

- samostatné vyšetření PI3K mutací aktuálně není hrazeno z prostředků zdravotního pojištění. Vyšetření se provádí pouze jako součást komplexního molekulárního testování výhradně na vyžádání onkologem KOC (indikace multidisciplinárním týmem) pouze v referenční laboratoři.

#### Obecné poznámky:

Prediktivní vyšetření nádorů jsou v současné době realizována na základě dohody mezi ČOS, SČP a VZP. Jedná se o oblast velmi dynamickou a algoritmy testování i spektrum vyšetřovaných markerů se průběžně mění dle dostupnosti léčby. Vyšetření jsou prováděna v některé z RL majících oprávnění příslušné vyšetření provádět, a to validovanou a externím hodnocením kvality periodicky ověřenou metodou. Pro stanovení prediktivních markerů se využívají imunohistochemické metody a metody molekulární biologie – masivně paralelní sekvenování (NGS), metody reverzní hybridizace na stripech, PCR v různých modifikacích, in situ hybridizace (FISH, CISH a SISH), Sangerovo sekvenování a další. Volba metody je na každé laboratoři a může se mezi laboratořemi lišit.

Na základě dohody SČP a ČOS ČLS JEP a plátců péče lze od 1. 3. 2021 u vybraných diagnóz (karcinom plic, prsu, kolorekta, nádory neznámého primárního zdroje a další solidní nádory) a **na základě indikace multidisciplinárním týmem KOC** provádět komplexní molekulární testování (DNA a RNA) metodou NGS. Toto testování nenahrazuje stávající algoritmy prediktivního testování a nejedná se o vyšetření určené pro plošné vyšetřování všech nádorů. Podrobnosti viz <http://www.patologie.info/soubory/all/NGS.pdf>

\*Seznam referenčních laboratoří a markerů/výkonů, které tyto laboratoře mají nasmlouvané, je dostupný na stránkách plátců zdravotní péče.