Testování variantu androgenového receptoru AR-V7 pro výběr pacientů s kastračně refrakterním metastazujícím karcinomem prostaty k léčbě novými hormonálními léky

Tomáš Büchler[1], Vladimír Bobek[2], Katarína Kološtová[2]

1. Onkologická klinika, 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha
2. Odd. laboratorní genetiky, Ústav laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a Fakultní Nemocnice Královské Vinohrady

Abstrakt

U nemocných s metastatickým kastračně refrakterním karcinomem prostaty (mCRPC) existuje několik možností systémové léčby, zahrnující zejména enzalutamid a abirateron, souhrnně nazývané androgen-receptor targeting agents (ARTA), taxany docetaxel a cabazitaxel a radioizotopové léčivo 223-radium dichlorid. V několika pracích z poslední doby se ukázalo, že přítomnost sestřihového variantu androgenového receptoru AR-V7 je spojena s refrakteritou na ARTA. Protože přítomnost AR-V7 neovlivňuje účinnost další skupiny léků využívaných u mCRCP, zejména taxanů, uvažuje se o využití AR-V7 jako prediktivního markeru pro individualizaci léčby mCRCP. K detekci AR-V7 jsou používány dva typy testů pracující s cirkulujícími nádorovými buňkami – na základě mRNA a na základě detekce abnormálního proteinu.

Klíčová slova: rakovina prostaty, abirateron, enzalutamid, alternativní sestřih, léková rezistence

Abstract

Several systemic treatment options are currently available for patients with metastatic castration-refractory prostate cancer (mCRPC) including the androgen-receptor targeting agents (ARTA) enzalutamide and abiraterone, the taxanes docetaxel and cabazitaxel, and the radioisotope drug 223-radium dichloride. Recent studies have shown that the presence of AR-V7, a splicing variant of androgen receptor, is associated with resistence to ARTA. Because the presence of AR-V7 does not affect the efficacy of other systemic therapies used in mCRCPs, especially taxanes, AR-V7 is a

candidate predictive marker for the individualization of mCRCP treatment. Two types of assays based on mRNA and abnormal protein detection are used to detect AR-V7 in circulating tumor cells.

Keywords: prostate cancer, abiraterone, enzalutamide, Alternative Splicing, Drug Resistance

Konflikt zájmů

TB obdržel honoráře za přednášky a publikace od firem Astellas a Janssen a cestovní grant od firmy Janssen.

Úvod

Do léčebných algoritmů pro metastatický kastračně refrakterní karcinom prostaty (mCRPC) v poslední době vstoupily léky enzalutamid a abirateron, souhrnně nazývané ARTA (androgen receptor targeting agents). Terapeutickým cílem ARTA je androgenový receptor (AR). U části nemocných s mCRCP dochází během syntézy AR k alternativnímu sestřihu mRNA se vznikem zkrácené formy AR bez vazebné domény pro androgeny. Na takovou formu AR se nemůže androgen navázat a receptor může aktivovat signální dráhy i bez svého ligandu.

AR-V7 a další sestřihové varianty jsou produkovány v situacích, kdy buňky reagují na stres způsobený např. androgenní deprivací. Při androgenní deprivaci dochází ke zvýšení transkripce genu pro AR a zároveň zvyšování produkce sestřihových variant. Tato situace je reverzibilní (1,2).

Výskyt sestřihových variant AR koreluje s pokročilostí onemocnění. Existuje mnoho popsaných variant sestřihu AR (ARV - AR variants). Nejprozkoumanější z ARV je varianta AR-V7 vzhledem k ztrátě celé ligand-vazebné domény AR. V několika pracích z poslední doby se ukázalo, že přítomnost AR-V7 je spojena s refrakteritou na ARTA. Protože přítomnost AR-V7 neovlivňuje účinnost další skupiny léků využívaných u mCRCP, zejména taxanů, uvažuje se o využití AR-V7 jako prediktivního markeru pro individualizaci léčby mCRCP (3,4).

V současnosti je klíčovou otázkou léčby nemocných s mCRPC optimální volba léčebné sekvence. Pro léčbu těchto pacientů máme v současnosti k dispozici abirateron, enzalutamid, docetaxel, radium-223, případně sipuleucel-T(u nás nedostupný). Testování AR-V7 bylo vyvinuto s cílem poskytnout vodítko pro volbu mezi terapii ARTA a taxany.

Princip testování AR-V7

Momentálně máme k dispozici dva typy CLIA- certifikovaných testů na přítomnost AR-V7 (podrobně viz Tabulka 1). Společným krokem u obou typů testů je izolace cirkulujících nádorových buněk (CTC). První z testů vyvinutý skupinou Antonarakise v Johns Hopkins

Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center v Baltimore izoluje CTC pomocí imunomagnetickoé separace (Adnatest, Adnagen, Německo) a detekuje mRNA ke stanovení AR-V7 pomocí RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) analýzy (5).

Druhá metoda se opírá o automatizovane vysokokapacitní skenování buněk nanesených na mikroskopické sklá (Epic Sciences, USA) a následnou detekci mutantního proteinu AR-V7 specifickou monoklonální protilátku proti AR-V7 (EPR15656; Abcam) v imunofluorescenčním testu. Metoda byla vyvinutá ve spoluráci EpiC Sciences a Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) v New Yorku (6).

Klinické výsledky

Výsledky testování AR-V7 v dosud publikovaných pracích jsou shrnuty v Tabulce 2.

Antonarakis et al v roce 2014 publikovali průlomovou práci ukazující na zásadní význam AR-V7 pro odpověď na ARTA (5). Celkem bylo do studie zařazeno 31 pacientů léčených enzalutamidem, z nich pozitivních na AR-V7 bylo 39% . Obdobně bylo sledováno 31 pacientů léčených abirateronem a z nich 19% bylo AR- V7 pozitivních.

Ve skupině léčené enzalutamidem bylo procento odpovědí na léčbu hodnocených pomocí PSA mnohem nižší u AR-V7+ pacientů (0% vs. 53%, P = 0,004). Tito pacienti měli kratší přežití bez progrese podle PSA (medián 1,4 měsíce vs. 6,0 měsíce, P <0,001) a také celkové přežití (medián 5,5 měsíců vs. medián nedosažen, P = 0,002).

Podobný výsledek byl dosažen u abirateronu: odpověď PSA 0% vs. 68% (P = 0,004), medián přežití bez progrese PSA 1,3 měsíce vs. nedosaženo (P <0,001), medián celkového přežití 10,6 měsíců vs. i nedosaženo (P = 0,006), ve všech případech jasně lepší výsledky u AR-V7- pacientů (5).

Do navazující studie bylo přidáno 37 pacientů léčených taxany. Klinické výsledky byly lepší u taxanů ve srovnání s terapií enzalutamidem nebo abirateronem u mužů s CTC+AR-V7+, zatímco výsledky se u mužů bez přítomného AR-V7 nelišily. U AR-V7 pozitivních pacientů byly odpovědi PSA vyšší ve skupině mužů léčených taxany než u mužů léčených enzalutamidem

nebo abirateronem (41% vs 0%, P <.001). PSA PFS a PFS byly významně delší u mužů léčených taxany (HR, 0,19 [95% CI, 0,07-0,52] pro PSA PFS, P = 0,001, HR 0,21 [95% CI, 0,07-0,59] pro PFS, P = 0,003) (6).

Pro prediktivní význam AR-V7 svědčí, že během terapie ARTA může dojít ke konverzi z AR-V7- do AR-V7+ stavu. Naopak během terapie taxany může dojít k „negativizaci" AR-V7. Překvapivě došlo ke konverzi do AR-V7 pozitivity i u 3 pacientů léčených docetaxelem. Tyto výsledky tedy ukazují na heterogenitu nádoru s náhodnými změnami během terapie taxany a selekčnímu tlaku ke konverzi AR na AR-V7 během terapie ARTA (7). Nádorové buňky s AR-V7 expresí tedy neztrácejí citlivost na taxany. Během léčby taxany může u pacienta s nádorovými buňkami exprimujícími AR-V7+ dojít je jejich negativizaci a tedy navození citlivosti na ARTA (7).

Dosud největší klinická studie zahrnující testování CTC na AR-V7 byla publikována opět Antonarakisem a spolupracovníky v roce 2017. Prospektivně bylo sledováno 202 pacientů léčených abirateronem nebo enzalutamidem. Před zahájením léčby bylo provedeno testování AR-V7 v CTC pomocí kombinace imunomagnetické separace (Adnagen) a RT-PCR testu. V této studii se poprvé objevuje skupina pacientů bez detekovatelných CTC (CTC–), tito pacienti byli z předchozích studií vyloučeni. Studie ukázala, že nepřítomnost CTC je signifikantně příznivým prognostickým faktorem. Rozdíly v klinických odpovědích a přežití jsou uvedeny v Tabulce 3, všechny rozdíly byly statisticky signifikantní (8). U pacientů s CTC AR-V7+ byl PFS zkrácen na dobu 4 měsíců vs. 10,1 měsíců v skupine V CTC ARV7- .

Skupina z MSKCC používající imunohistochemický test na detekci AR-V7 proteinu v CTC publikovala studii zahrnující 161 pacientů s celkem 193 vzorky odebranými v době rozhodování o změně léčby. V 60,1% případech šlo o pacienty předléčené ARTA (abirateronem, enzalutamidem nebo apalutamidem).

AR-V7 pozitivní CTC byly nalezeny ve 34 vzorcích (18%), včetně 3% pacientů před léčbou první linie, 18% před léčbou druhé linie a 31% u nemocných ve vyšších liniích terapie. Pacienti s CTC AR-V7+ měli oproti CTC AR-V7- horší výsledky v obou parametrech přežití: medián PFS 2,3 vs, 14,5 měsíce (P <0,001), medián OS 4,6 vs. nedosaženo (P<0,001). Všichni pacienti s detekovanými AR-V7+ CTC byli rezistentní na léčbu ARTA. AR-V7+ pacienti

dosahovali na léčbě taxany výrazně lepších výsledků než na ARTA (poměr rizik pro OS 0,24, 95% CI 0,10-0,57; P = 0,035) (9,10).

Přítomnost CTC s jadernou pozitivitou AR-V7 před terapií výrazně predikovala refrakteritu na ARTA, avšak nikoli na taxany. Celkově 12 % vzorků vykazovalo pozitivitu AR-V7 jen v cytoplazmě. Pro cytoplasmatickou pozitivitu AR-V7 korelace s přežitím nebyla prokázána (10). Toto tvrzení je možné diskutovat na více úrovních. Z pohledu molekulárně biologického je AR standardně funkční (iniciující transkripci) jenom v jádře. Lokalizaci v jádře předchází dimerizace AR receptorů v cytosolu a jejich přesun přes jadernou membránu. Vzhledem k počtu koaktivátorů AR receptorů je důvodné se obávat toho, že dříve nebo později k přesunu AR-V7 do jádra dojde. Z tohoto pohledu může být teda i přítomnost AR-V7 v cytoplasmě kritická, i když zatím klinickými daty nepodložená.

Mezi publikacemi využívajícími imunohistochemický a RT-PCR test na AR-V7 je sice jistá diskrepance, ale ve výsledku můžeme konstatovat, že závěry týkající se progrese onemocnění a odpovědi na léčbu ve vztahu k AR-V7 jsou tyto práce ve shodě. Celkově je možné pokládat výskyt AR-V7 na úrovni proteinu a mRNA za faktor zhoršující celkovou prognózu mCRCP.

O externí validaci testů na AR-V7 se pokusili Bernemann et al. V kohortě 21 pacientů mCRPC léčených abirateronem nebo enzalutamidem bylo zjištěno, že podskupina 6 pacientů s AR-V7+ CTC měla klinický benefit z léčby abirateronem nebo enzalutamidem. Bernemann et al použili test založený na imunomagnetické separaci (Adnatest, Qiagen) a RT-PCR, ale metodu modifikovali – pro PCR použily jiné primery než Antonarakis et al. Závěrem této práce je, že přítomnost AR-V7 v CTC úplně nepredikuje refrakteritu na abirateron nebo enzalutamid (11). Je nutné poznamenat, že všechny výše uvedené publikace hodnotily klinické odpovědi na léčbu pomocí hladin PSA.

Přítomnost ARV7 lze hodnotit nejen v CTC, ale i přímo v metastázách. Efstathiou et al. charakterizovali na molekulární úrovni vzorky kostních metastáz u pacientů mCRPC , u kterých byla indikována léčba enzalutamidem. Prezentované data poukazují na to, že AR-V7 exprese v metastázích v kostní dřeni může být prediktivní vzhledem odpovědi na enzalutamid (12).

Jak testy na úrovni proteinu, tak testy na úrovni mRNA prochází v současnosti klinickou validací v prospektivních studiích. V rámci testování AR-V7 na CTC-buňkách z důvodu všeobecně vyšší citlivosti molekulárních metod lze podle našeho názoru a při současném stavu vědomostí doporučit spíše metodu detekující AR-V7 na úrovni mRNA. Testování na úrovni mRNA umožňuje přidat v průběhu analýzy CTC další libovolné markery vztahující se k charakteru nádorových buněk, což lze považovat za výhodu.

Testování AR-V7 ve světových guidelines

Doporučení NCCN uvádí, že zatím neexistují jednoznačné důkazy podporující využití testování AR-V7 pro indikaci léčby ARTA (13). Konstatuje se zde, že přítomnost AR-V7 v CTC detekovaná z RNA na základě PCR není prediktivním faktorem pro odpověď na taxany, u nichž byl v případě AR-V7 pozitivity léčebný efekt lepší než u ARTA. Doporučení uvádí, že před léčbou mCRPC je prevalence AR-V7+ jen 3%, po léčbě ARTA je vyšší a dosahuje 19-34%. Panel nicméně nedoporučuje testování pacientů po progresi na ARTA, protože považuje sekvenci ARTA-ARTA za málo účinnou a v této situaci doporučuje taxany (13).

Doporučení ESMO byly naposled aktualizovány v roce 2015 a o testování přítomnosti AR-V7 se nezmiňují (14). Guidelines Evropské urologické asociace (EAU) z roku 2017 se o testování AR-V7 rovněž nezmiňují (15)

Ekonomické analýzy

V podmínkách amerického zdravotnictví byla vypracovaná analýza potenciální úspory nákladů při provádění testů AR-V7 u pacientů s mCRPC před zahájením léčby abirateronem nebo enzalutamidem s vyloučením těchto léků u pacientů s AR-V7+ CTC. Pro srovnání bylo použito současné situace, kdy jsou abirateronem nebo enzalutamidem empiricky léčení všichni pacienti s mCRPC. Autoři zjistili, že k úspoře nákladů dochází, pokud skutečná prevalence AR-V7 dosahuje > 5% (16).

Závěr a doporučení

Rutinní použití testů na AR-V7 pro výběr léčby nemocných s mCRPC zatím není doporučováno, jelikož se čeká na potvrzující data z prospektivní multicentrické klinické studie. První data by měla být dostupná koncem roku 2017. Procento CTC AR-V7+ pacientů v populaci mužů dosud neléčených ARTA je dle dostupných studií relativně nízké na začátku léčby, ale dramaticky stoupá už 3 měsíce po zahájení léčby ARTA. Nicméně, ARV7 test je dostupný v některých státech v USA pro samoplátce právě z důvodu personalizovaného stanovení sekvence léčby.

Z výsledků dosud publikovaných prací vyplývá, že je méně pravděpodobné, aby pacient s CTC AR-V7+ reagoval na léčbu ARTA, přičemž odpověď nemoci na taxany není přítomností ARV7 ovlivněna (17). Z tohoto poznatku však zatím nelze vyvodit závěry pro volbu léčby první linie v běžné klinické praxi. Důvodem pro opatrnost je zjištění, že účinnost taxanů však po předléčebí ARTA klesá (18, 19), nepoměrně vyšší toxicita léčby taxany ve srovnání s ARTA a faktu, že i menšina AR-V7+ pacientů může být responzivní na terapii ARTA. Pokud je nemocnému s ARV7+ CTC podána léčba taxany, může být po jejím ukončení opět na tento biomarker vyšetřen, protože u části z nich dochází k negativizaci ARV v CTC.

U pacientů předléčených ARTA se prevalence AR-V7 zvyšuje a dosahuje 19-34%. Vzhledem k vyšší očekávané prevalenci by v této populaci pravděpodobně bylo testování na AR-V7 ekonomicky přínosné. Procento AR-V7+ pozitivních pacientů odpovídajících na léčbu ARTA ve 2. linii se zdá být velmi nízké, jen 4,8% (8). **Proto je možné doporučit testování AR-V7, pokud se u nemocného předléčeného jedním typem ARTA zvažuje léčba jiným lékem z této skupiny.**

Prevalence AR-V7 v českých podmínkách není známá a vzhledem k odlišnostem v patofyziologii karcinomu prostaty mezi bílou a černou rasou (20) není vyloučeno, že v české populaci bude prevalence AR-V7 rozdílná oproti populaci americké. Prevalenční studie ARV7 v české populaci je nutná. V každém případě je testování AR-V7 v CTC u pacientů s mCRCP krokem vstříc personalizaci onkologické péče.

Reference

1. Liu LL, Xie N, Sun S, Plymate S, Mostaghel E, Dong X. Mechanisms of the androgen receptor splicing in prostate cancer cells. Oncogene. 2014 Jun 12;33(24):3140-50.
2. Watson PA, Chen YF, Balbas MD, Wongvipat J, Socci ND, Viale A, Kim K, Sawyers CL. Constitutively active androgen receptor splice variants expressed in castration-resistant prostate cancer require full-length androgen receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Sep 28;107(39):16759-65.
3. Wadosky KM, Koochekpour S. Androgen receptor splice variants and prostate cancer: From bench to bedside. Oncotarget. 2017 Mar 14;8(11):18550-18576.
4. Antonarakis ES, Armstrong AJ, Dehm SM, Luo J. Androgen receptor variant-driven prostate cancer: clinical implications and therapeutic targeting. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2016 Sep;19(3):231-41.
5. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Luber B, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. N Engl J Med. 2014 Sep 11;371(11):1028-38.
6. Antonarakis ES, Lu C, Luber B, et al. Androgen Receptor Splice Variant/ 7 and Efficacy of Taxane Chemotherapy in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. JAMA Oncol. 2015 Aug;1(5):582-91.
7. Nakazawa M, Lu C, Chen Y, et al Serial blood-based analysis of AR-V7 in men with advanced prostate cancer. Ann Oncol. 2015 Sep;26(9):1859-65.
8. Antonarakis ES, Lu C, Luber B, et al. Clinical Significance of Androgen Receptor Splice Variant-7 mRNA Detection in Circulating Tumor Cells of Men With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Treated With First- and Second-Line Abiraterone and Enzalutamide. J Clin Oncol. 2017 Apr 6:JCO2016701961.
9. Scher HI, Lu D, Schreiber NA, et al. Association of AR-V7 on Circulating Tumor Cells as a Treatment-Specific Biomarker With Outcomes and Survival in Castration-Resistant Prostate Cancer. JAMA Oncol. 2016 Nov 1;2(11):1441-1449.
10. Scher HI, Graf RP, Schreiber NA, et al. Nuclear-specific AR-V7 Protein Localization is Necessary to Guide Treatment Selection in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. Eur Urol. 2017 Jun;71(6):874-882.
11. Bernemann C, Schnoeller TJ, Luedeke M, et al. . Expression of AR-V7 in Circulating Tumour Cells Does Not Preclude Response to Next Generation Androgen Deprivation Therapy in Patients with Castration Resistant Prostate Cancer. Eur Urol. 2017 Jan;71(1):1-3.
12. Efstathiou E, Titus M, Wen S, Hoang A, Karlou M, Ashe R, Tu SM, Aparicio A, Troncoso P, Mohler J, Logothetis CJ. Molecular characterization of enzalutamide-treated bone metastatic castration-resistant prostate cancer. Eur Urol. 2015;67:53–60.
13. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Prostate cancer Version 2.2017. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf.
14. Parker C, Gillessen S, Heidenreich A, Horwich A; ESMO Guidelines Committee.. Cancer of the prostate: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015 Sep;26 Suppl 5:v69-77. doi: 10.1093/annonc/mdv222.
15. N. Mottet (Chair), J. Bellmunt, E. Briers Prostate Cancer, 2017 Guidelines. http://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/
16. Markowski MC, Frick KD, Eshleman JR, Luo J, Antonarakis ES. Cost-Savings Analysis of AR-V7 Testing in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Eligible for Treatment With Abiraterone or Enzalutamide. Prostate. 2016 Dec;76(16):1484-1490.

17. Antonarakis ES, Lu C, Chen Y, Luber B, Wang H, Nakazawa M, et al. AR splice variant 7 (AR-V7) and response to taxanes in men with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). J Clin Oncol. 2015;33:abstr 138.
18. van Soest RJ, de Morree ES, Kweldam CF, de Ridder CM, Wiemer EA, Mathijssen RH, et al. Targeting the androgen receptor confers in vivo cross-resistance between enzalutamide and docetaxel, but not cabazitaxel, in castration-resistant prostate cancer. Eur Urol. 2014;67:981–5.
19. van Soest RJ, van Royen ME, de Morree ES, Moll JM, Teubel W, Wiemer EA, et al. Cross-resistance between taxanes and new hormonal agents abiraterone and enzalutamide may affect drug sequence choices in metastatic castration-resistant prostate cancer. Eur J Cancer. 2013;49:3821–30.
20. Farrell J, Petrovics G, McLeod DG, Srivastava S. Genetic and molecular differences in prostate carcinogenesis between African American and Caucasian American men. Int J Mol Sci. 2013 Jul 25;14(8):15510-31.
21. Lokhandwala PM, Riel SL, Haley L, Lu C, Chen Y, Silberstein J, Zhu Y, Zheng G, Lin MT, Gocke CD, Partin AW, Antonarakis ES, Luo J, Eshleman JR. Analytical Validation of Androgen Receptor Splice Variant 7 Detection in a Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) Laboratory Setting. J Mol Diagn. 2017 Jan;19(1):115-125.

Tabulka 1. Popis testů pro detekci AR-V7 v CTC valkidovaných podle Clinical Laboratory Improvement Amendments (**CLIA**) (21).

Typ testu pro AR-V7 detekci z CTC	**Historie**	**Protokol**	**Výhody**
Qiagen AR-V7 Test (detekuje AR-V7 mRNA)	• Metoda CTC izolace vyvinuta a komercializována v Adnagen, Langenhagen, Německo • AR-V7 testováno na CTC pomocí qPCR v John Hopkins Hospital, USA • Komercializováno přes Qiagen • Klinická studie: M Antonarakis: Sloan Kettering Memorial Hospital	Izolace CTCs probíhá na principu imunomagnetické separace (na kulličky jsou navázané protilátky anti EpCAM a antiHER2) buněk z 8 ml krve. Analýza CTC probíhá na molekulární úrovni pomocí multiplex qRT-PCR. Cílem je v obohacené frakci detekovat transkripty PSA, PSMA a EGFR. Detekce jakéhokoliv z výše uvedených genů je reportována jako CTC- pozitivita.	Identifikuje CTC buňky specifické pro karcinom prostaty. **Modifikovaný protokol umožňuje detekovat mRNA AR-v7** Metoda byla demonstrována jako klinicky—aplikovatelná v několika klinických studiích a je taky certifikována CLIA – laboratoři *
Epic AR-V7 Test (detekuje AR-V7 protein)	• Metoda CTC izolace vyvinuta ve Scripps Research Institute • komercializována v Epic Sciences • Klinická studie CTC- AR-V7 testu HI. Scher: Sloan Kettering Memorial Hospital,NY, USA	Mononukleární buňky z krve (7,5ml) jsou naneseny na 10-12 mikroskopických skel a barveny DAPI a protilátkami proti, CD45, CK a jiným proteinům. Skla jsou následně skenovány FAST – technologií (Fibre Optic Array Scanning Technology) Automatizovaná analýza snímků detekuje CTCs	Metoda identifikuje také neobvyklé fenotypy CTC, (malé, apoptické, CK- negativní) Další markery můžou být testovány aditivně dle aktuální potřeby. Metoda je nabízena jako CLIA-certifikována v EPIC Science laboratořích.

Tabulka 2 Frekvence AR-V7 variantů jako výsledek certifikovaných algoritmů pro testování CTC AR-V7

Typ testu pro AR-V7 detekci z CTC	**Klinické studie**	**N**	**CTC +**	**CTC ARV7+**	**CTC ARV7 -**	**Komentář k výsledkům**
Qiagen AR-V7 Test (detekuje AR-V7 mRNA)	Antonarakis et al. 2014 (4)	**62** (31– ENZA, 31 – ABI)		39% (ENZA) 19% (ABI)		Přítomnost AR-V7 mRNA variantu může být prediktorem rezistence na léčbu ABI/ENZA .
	Antonarakis et al. 2015 (5)	**37** (terapie taxány)		46 %		Přítomnost AR-V7 mRNA variantu může být prediktorem indikujícím pacienty k léčbě taxány.
	Antonarakis et al. 2017 (6)	**202**	149 (73,7%)	36 (29,0%)	113 (56%)	Výsledky potvrdili negativní prognostický dopad CTC+ ARV7+ ve skupině s terapií ABI/ ENZA (zkrácení PFS u CTC ARV7+). Po prvý krát byla zdokumentována taky skupina CTC- negativních pacientů (53, 26,2%) podstupujících léčbu u mCRCP.
Epic AR-V7 Test (detekuje AR-V7 protein)	Scher HI et al. 2016 (9)	161 pacientů)		22 **%**		Exprese AR-V7 proteinu v pre-ARTA období je prediktorom delší OS- periody při podání taxanů
	Scher HI et al. 2017 (10)	193 vzorků (161 pacientů)		34 * (18%) 56 (29%)		Informace o lokalizaci AR-V7 proteinu (jádro vs. cytomplazma) se zdá být stěžejní ve vztahu k výběru terapie (taxany vs. ARTA), separátně hodnoceny pre- ARTA vzorky (128) a pre – taxan vzorky (63).

*použité algoritmy zahrnující lokalizaci AR-V7 v buňce

Tabulka 3. Výsledky studie Antonarakis et al, 2017, ukazující prediktivní hodnotu testu na AR-V7 v CTC (8).

Pacienti dosud neléčení ARTA	odpověd PSA	PFS (měsíce)
CTC-	86,1% (31 z 36)	21,6 (95% CI, 13,9-nedosaženo)
CTC + / AR-V7-	65,8% (48 z 73)	10,1 (95% CI, 7,9-14,9)
CTC + / AR-V7 +	26,7% (4 z 15)	4,1 (95% CI, 3,0-nedosaženo)
Pacienti předtím léčení ARTA		
CTC-	52,9% (9 z 17)	6,2 (95% CI 5,4 - nedosaženo)
CTC + / AR-V7-	27,5% (11 z 40)	5,3 (95% CI 4,1-7,7)
CTC + / AR-V7 +	4,8% (1 z 21)	2,8 (95% CI 2,1-3,4)