



МОЛЕКУЛАРНИ МАРКЕРИ КАО ПРЕДИКТОРИ ИСХОДА ЛЕЧЕЊА ОНКОЛОШКИХ ПАЦИЈЕНАТА

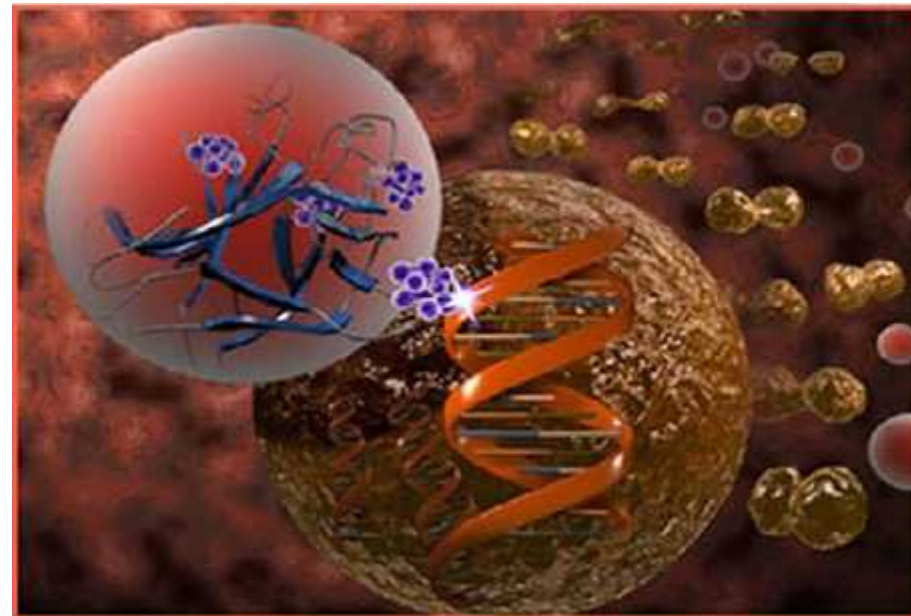


С.Митровић



БИОМАРКЕРИ - дефиниција

- **Туморски биомаркери** су молекули, који се појављују у већим концентрацијама у **ткиву, крви** и/или **телесним течностима** и **излучевинама** оболелих од малигнитета.
- Туморске маркере производи сам тумор и/или домаћин као одговор на његово присуство.



БИОМАРКЕРИ – историјат

Year	Author	Marker
1846	H. Bence Jones	Bence Jones protein
1928	W.H. Brown	Ectopic hormone syndrome
1930	B. Zondek	HCG
1932	H. Cushing	ACTH
1949	K. Oh-Uti	Deletions of blood group antigens
1959	C. Markert	Isoenzymes
1963	G.I. Abelev	AFP (fetoprotein)
1965	P. Gold and S. Freeman	CEA
1969	R. Heubner and G. Todaro	Oncogenes
1975	H. Kohler and G. Milstein	Monoclonal antibodies
1980	G. Cooper, R. Weinberg, M. Bishop	Oncogene probes and transfection
1985	H. Harris, R. Sager, and A. Knudson	Suppressor gene

CEA: Carcinoembryogenic antigen, AFP: Alpha-fetoprotein, HCG: Human chronic gonadotropin, ACTH: Adrenocorticotrophic Hormone

- 1846. - Bence-Jones протеини
- 1940. - кисела фосфатаза
- 1960. - имуноесеј
- 1963. - алфа-фето протеин
- 1965. - карциноембрионални антиген
- 1975. - моноклонска антитела
- 1980. – простатични специфични антиген
- 1985. – тумор супресорски гени
- 2001. – микроереј, мултипараметарска анализа, масена спектрометрија, биоинформатика

БИОМАРКЕРИ — историјат предиктивних маркера


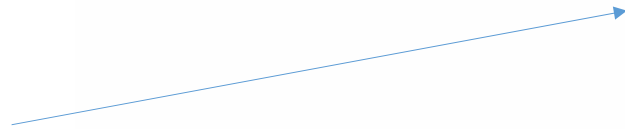
- Рецептори за естрогене и прогестерон (ER, PR)
 - Рецептори за епидермалне факторе раста (HER-2, EGFR)
 - Кластери диференцијације (CD20)
- 
- BRAF, ALK, PD-L1, PD1.....

Fig. 1. PRECISION MEDICINE
IN BREAST CANCER



БИОМАРКЕРИ - класификација

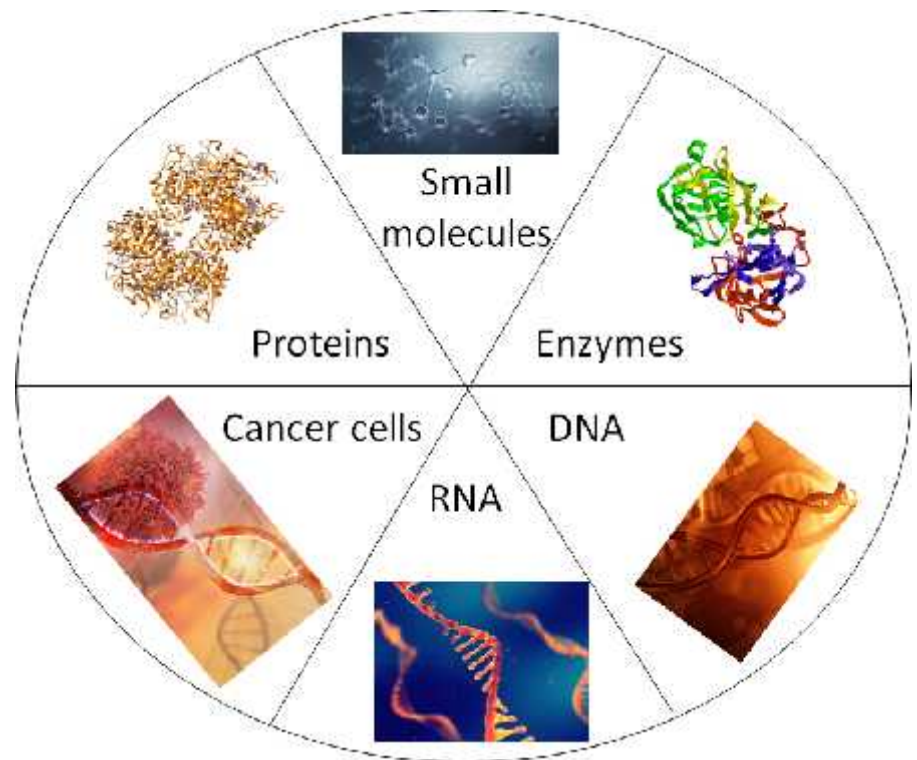
- **Класа 1:** јединствени за одређени малигнитет и не појављују се код других тумора
- **Класа 2:** појављују се код многих или свих тумора, чак и различитог хистолошког типа, али их нема код здравих особа
- **Класа 3:** експримирају се и код оболелих и код здравих



БИОМАРКЕРИ - природа

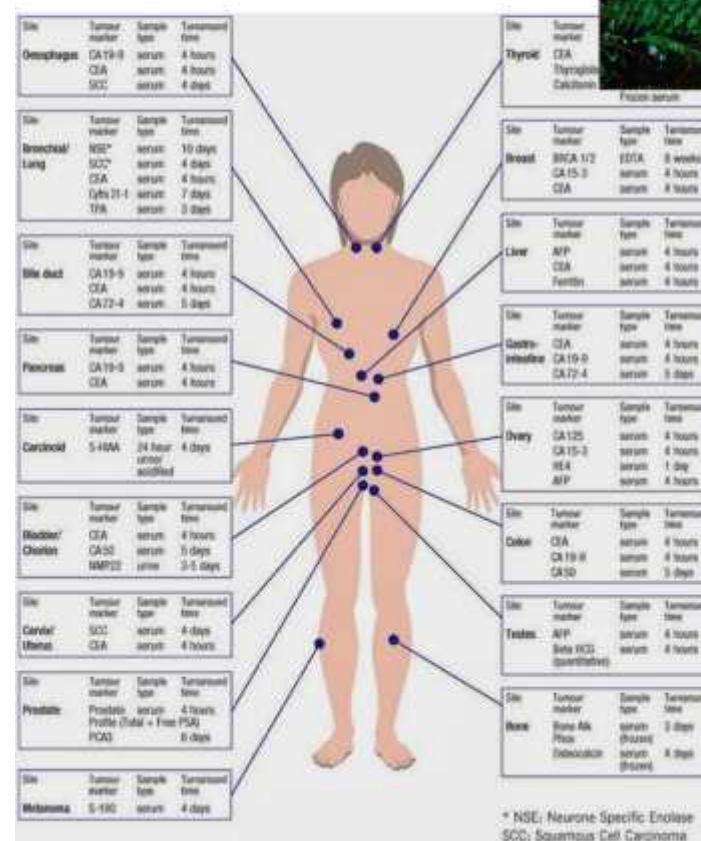
- Ћелијски површински антигени
- Цитоплазматски протеини
- Ензими
- Хормони

CLASSIFICATION OF TUMOUR MARKERS



БИОМАРКЕРИ - ТИПОВИ

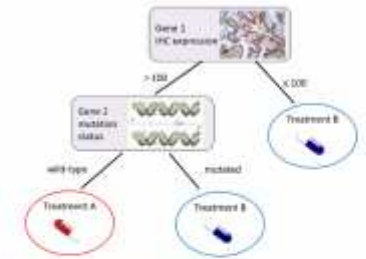
- Онкофетални антигени (AFP,CEA)
- Протеини (casein,feritin)
- Ензими (алкална или кисела фосфатаза)
- Рецептори (ER,PR,AR,HER-2)
- Полиамини (спермин,путридин)
- Ћелијски маркери (Т или Б ћелијски маркери)
- Хормони (HCG,GH,renin,erythropoetin)



БИОМАРКЕРИ – варијације типова у малигној трансформацији

ЋЕЛИЈСКИ АНТИГЕНИ (маркери)

- Модификација антигена
- Експресија нових антигена
- Повећање/смањење експресије
- Промена ћелијске дистрибуције/локализације
- Оштећење биохемијске природе маркера



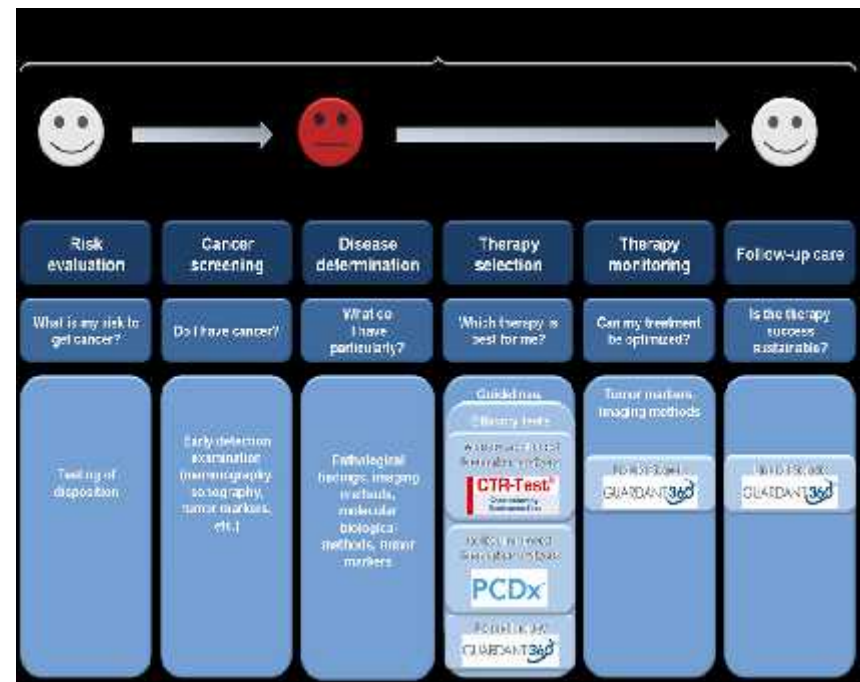
БИОМАРКЕРИ - значај

- Скрининг
- Дијагноза
- Прогноза
- Предикција
- Лечење

Функционални
биомаркери

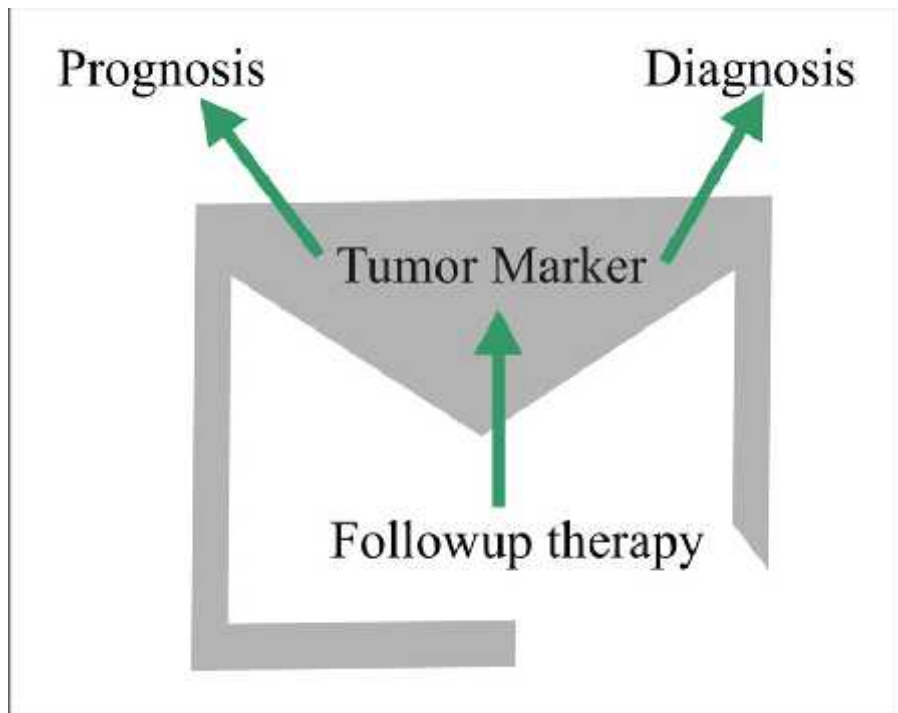
Дијагностички
биомаркери

Прогностички
биомаркери



Предиктивни
биомаркери

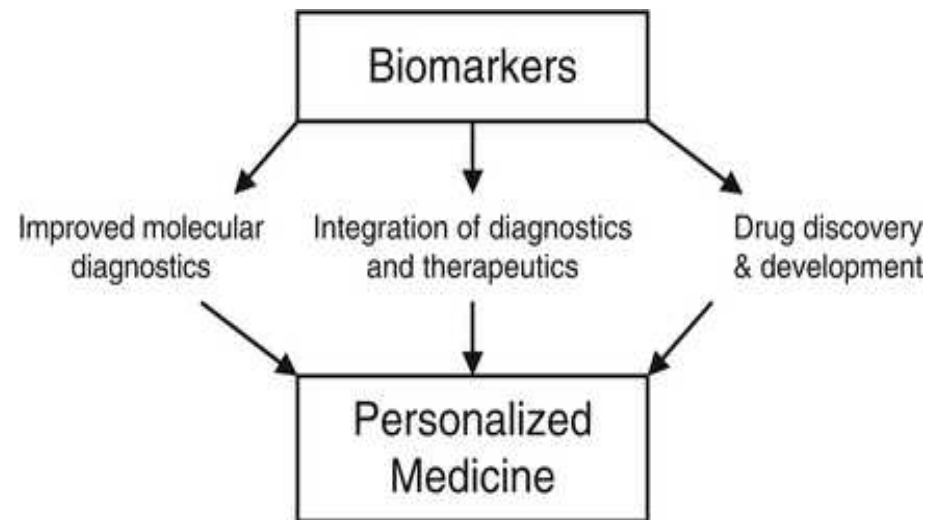
БИОМАРКЕРИ - сврха



- Контролни преглед здравих и откривање особа са повећаним ризиком за обољевање од малигне болести
- Дијагностика малигне болести
- Предвиђање прогнозе
- Праћење тока болести и појаве рецидива
- Праћење одговора на терапију

БИОМАРКЕРИ - циљеви

- Унапређење молекуларне дијагностике
- Интеграција дијагностике и лечења
- Откриће и развој нових терапијских модалитета
- Крајњи циљ персонализована терапија сваког оболелог пацијента

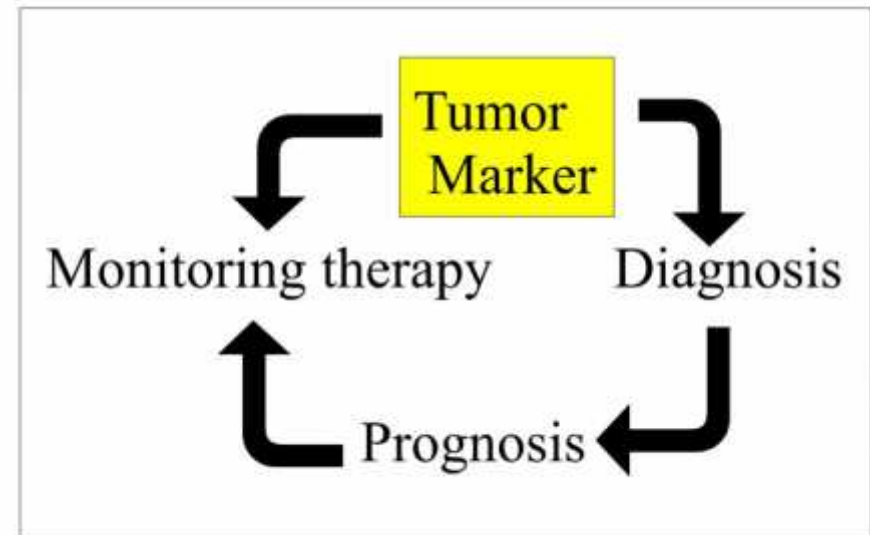


БИОМАРКЕРИ - критеријуми

- Специфичност
- Сензитивност

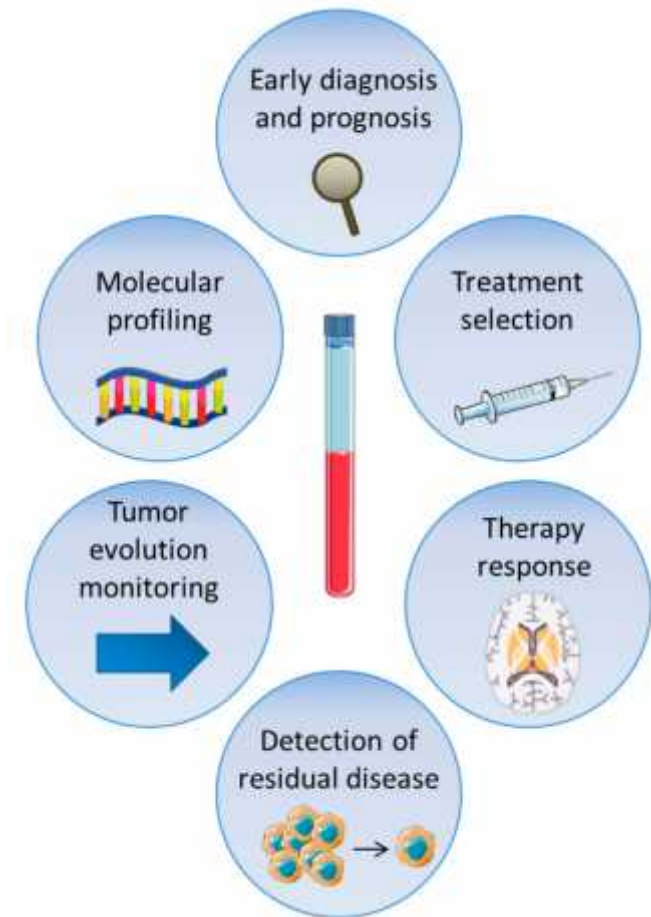


- Начин детекције
- Цена



БИОМАРКЕРИ - идеал

- Да је произведен на препознатљивим нивоима код свих пацијената са одређеним малигним тумором;
- Да се његова производња јавља у премалигним или малигним променама или у раној фази болести;
- Да је експресија специфично повезана за одређени орган;
- Да се његово присуство доказује у телесним течностима добијеним неинвазивно или у лако доступном ткиву;
- Да су нивои продукције квантитативно повезани са волуменом тумора, биолошким понашањем или прогресијом болести;
- Да поседује релативно кратак полуживот који одражава временске промене у прогресији/регресији тумора и показује јасан одговор на терапију;
- Да је његово доказивање и мерење стандардизовано, поновљиво и објективно.



БИОМАРКЕРИ - идеал

Идеалан туморски маркер би био онај:

- који се може открити у крви, ткиву или излучевинама
- који је присутан само код оболелих
- чија се концентрација подудара са стадијумом болести
- чијим се мерењем може пратити одговор на терапију
- који је ткивно-специфичан
- чије је мерење једноставно и поновљиво
- чије је мерење прихватљивог материјалног трошка



БИОМАРКЕРИ - идеал



- Нажалост, ниједан познати туморски маркер не поседује особине идеалног.
- Ниједан маркер није у исто време специфичан, сензитиван, довољно практичан и јефтин, да би се могао користити у дијагностичке, прогностичке и предиктивне сврхе.

Biomarker	Glycosylated	Cancer type	Specimen	Clinical use
Alpha-feto protein (AFP)	Yes	Testicular	Serum/plasma; Amniotic fluid ^a	Management of cancer
AFP-L3%	Yes	Hepatocellular	Serum	Risk assessment
Beta-2-microglobulin (B2M)	Yes	Blood cells	Serum, Urine, Cerebrospinal fluid	Monitoring progression and recurrence
Bladder tumor-associated antigen	Unknown	Bladder	Urine	Monitoring disease
CA 15-3	Yes	Breast	Serum/plasma	Monitoring disease; Response to therapy
CA 19-9	Yes ^b	Pancreatic	Serum/plasma	Monitoring disease
CA 27-29	Yes	Breast	Serum	Monitoring disease; Response to therapy
CA 125	Yes	Ovarian	Serum/plasma	Monitoring disease; Response to therapy
Carcinoembryonic antigen (CEA)	Yes	Colon	Serum/plasma	Monitoring disease; Response to therapy
c-Kit	Yes	Gastrointestinal stromal tumors	Tissue	Detection of tumor; Patient selection
EpCAM, CD45, cytokeratins 8, 18+, 19+	Yes	Breast	Whole blood	Monitoring progression and survival
Epidermal growth factor receptor (EGFR)	Yes	Colon	Tissue	Therapy selection
Estrogen receptor (ER)	Yes	Breast	Tissue	Prognosis; Response to therapy
HER2/NEU	Yes	Breast	Serum; Tissue	Monitoring progression; Therapy selection
Human chorionic gonadotropin	Yes	Testicular	Serum	Staging of cancer
Human epididymis protein 4 (HE4)	Yes	Ovarian	Serum	Monitoring progression and recurrence
Fecal occult blood (haemoglobin)	Yes	Colorectal	Feces	Detection of tumor
Fibrin/fibrinogen degradation product (DR-70)	Yes	Colorectal	Serum	Monitoring disease
Free prostate specific antigen	Yes	Prostate	Serum	Screening for disease
Nuclear mitotic apparatus protein (NuMA, NMP22)	Yes	Bladder	Urine	Diagnosis and monitoring disease
p63 protein	No	Prostate	Tissue	Differential diagnosis
Plasminogen activator inhibitor (PAI-1)	Yes	Breast	Tissue	Monitoring disease; Therapy selection
Progesterone receptor (PR)	Yes	Breast	Tissue	Therapy selection
Pro2PSA	Yes	Prostate	Serum	Discriminating cancer from benign disease
Thyroglobulin (Tg)	Yes	Thyroid	Serum/plasma	Monitoring disease
Total PSA	Yes	Prostate	Serum	Diagnosis and monitoring disease
Urokinase plasminogen activator (uPA)	Yes	Breast	Tissue	Monitoring disease; Therapy selection










Notes.

^a Also used in prenatal diagnosis of birth defects, a non-cancer application.

^b A tetrasaccharide carbohydrate that is usually attached to O-glycans on the surface of cells.

БИОМАРКЕРИ — употреба у клиничкој пракси

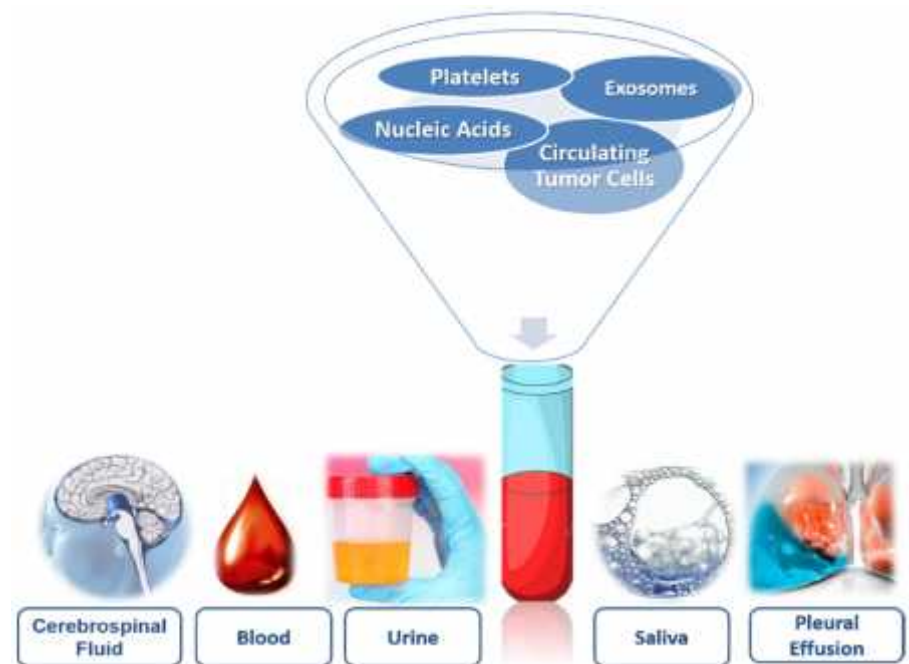
- Одређивање концентрације туморских маркера у клиничкој пракси највећи бенефит за пацијента има ако се комбинује са другим анализама и дијагностичким процедурама.
- Мерење концентрације туморских маркера у крви као једине дијагностичке методе, није довољно ни препоручљиво из два основна разлога:
 - концентрација туморских маркера може бити повишена и код особа са одређеним бенигним стањима („лажно“ позитиван налаз)
 - концентрација туморских маркера није повишена код сваке особе са малигним тумором, посебно у раним стадијумима болести („лажно“ негативан налаз)

Commonly used Tumor Markers			
CEA	Colorectal Cancer	CA-125	Ovarian Cancer
<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 5 ng/mL * High > 10 ng/mL 		<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 35 U/mL * High > 50 U/mL 	
AFP	Liver Cancer	CA 15-3	Breast Cancer
<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 10 ng/mL * High > 200 ng/mL 		<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 40 U/mL * High > 60 U/mL 	
PSA	Prostate Cancer	CA 19-9	Pancreatic Cancer
<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 4 ng/mL * High > 10 ng/mL 		<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 35 U/mL * High > 100 U/mL 	
B-HCG	Testicular Cancer	CA 72-4	Gastric Cancer
<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 5 U/L * High > 5 U/L 		<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 6 U/mL * High > 30 U/mL 	
B2M	Multiple Myeloma	Perfect Tumor Marker	
<ul style="list-style-type: none"> * Normal < 2 mg/L * High > 2 mg/L 		<ul style="list-style-type: none"> * Specific to detect one pathology * Sensitive with low cut-off value * Short T 1/2 to allow follow up * Correlated to tumor mass 	
<ul style="list-style-type: none"> * Present markers without suggesting symptoms can't diagnose cancer * Absent markers with suggesting symptoms can't exclude cancer * Increasing levels indicate disease progression * Decreasing levels indicate disease regression * Levels returning to normal post-therapy suggest complete eradication * Levels still high or increase over time suggest residual or recurrence 			

БИОМАРКЕРИ – употреба у скринингу

- **ОГРАНИЧЕНА УПОТРЕБА**

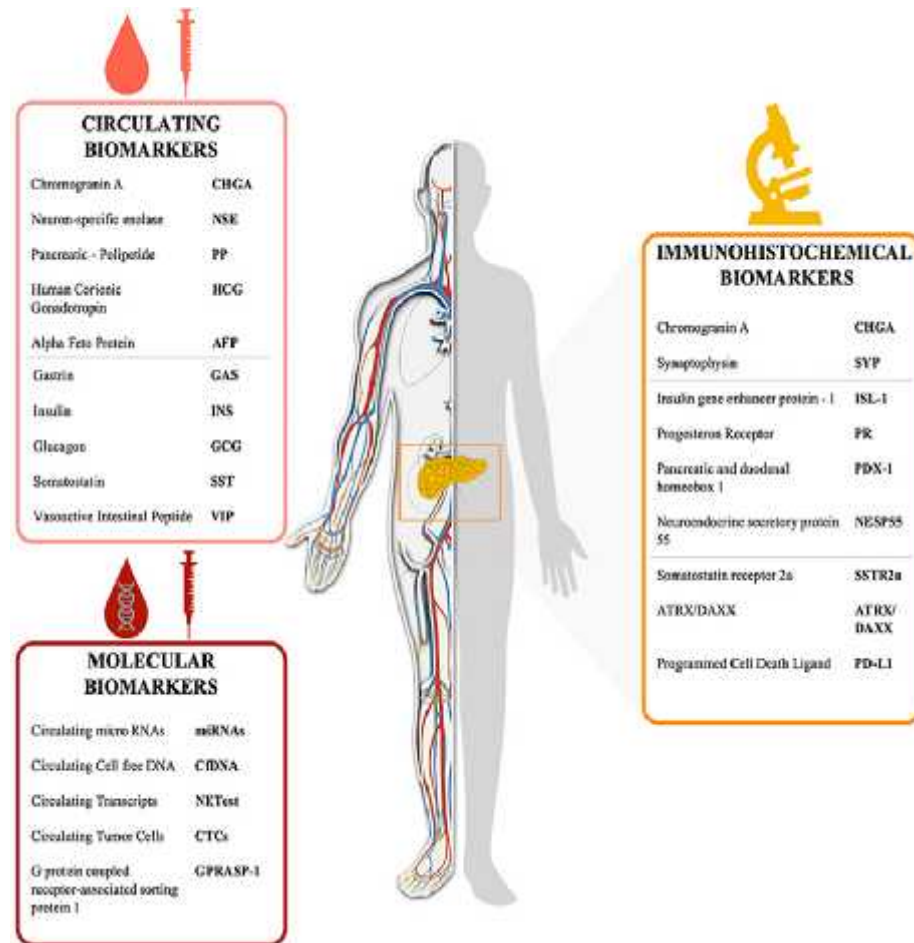
- Ниво већине туморских маркера се повећава у одмаклим стадијумима малигнитета, док је за квалитетан скрининг-маркер неопходно да се повећање његове концентрације детектује у раној фази болести.
- Већина маркера има ниску дијагностичку сензитивност и ниску орган-специфичност.



БИОМАРКЕРИ - дијагноза

- **ОГРАНИЧЕНА УПОТРЕБА**

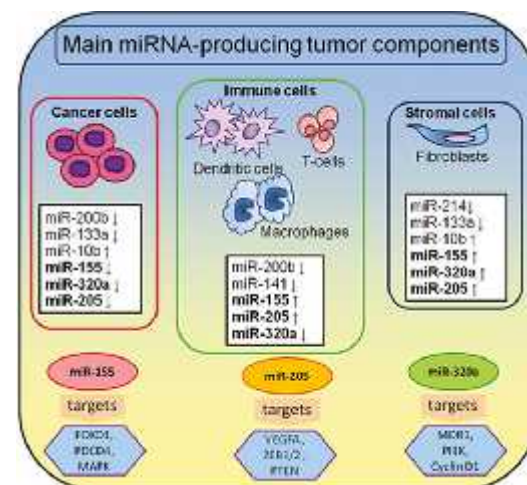
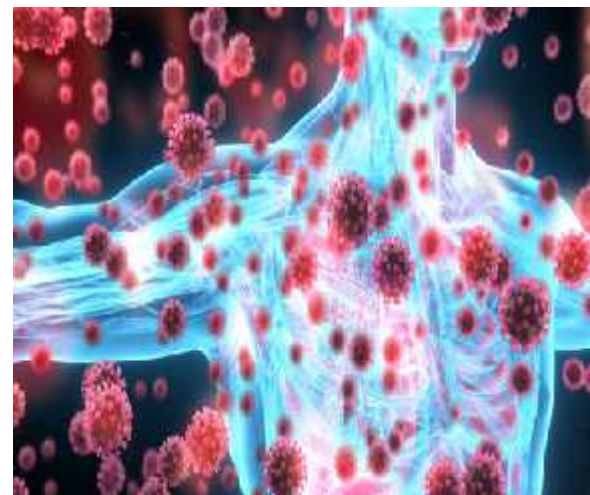
- Ниска дијагностичка сензитивност и специфичност
- Велика помоћ клиничару за индиковање других дијагностичких метода и инвазивних процедура



БИОМАРКЕРИ - прогноза

- **ОГРАНИЧЕНА УПОТРЕБА**

- Већина туморских маркера има прогностичку вредност мада њихова тачност и поузданост није довољно добра да би гарантовала терапијски успех/неуспех и на тај начин прецизно дефинисала прогнозу болести.



БИОМАРКЕРИ – предикција

Предиктивни фактори

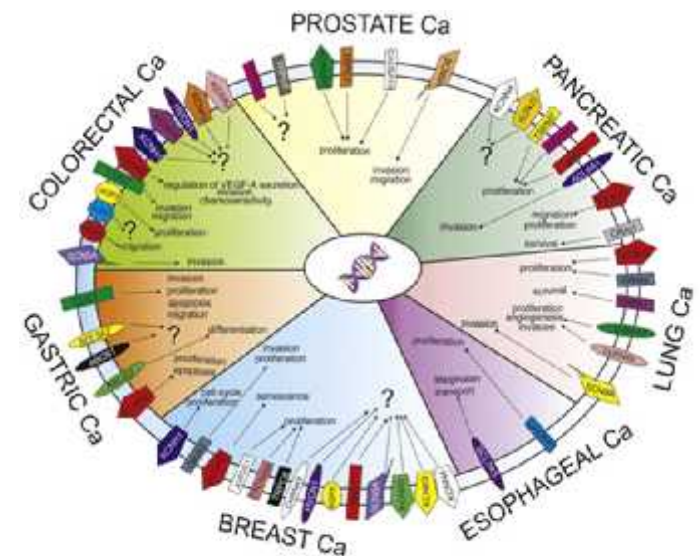
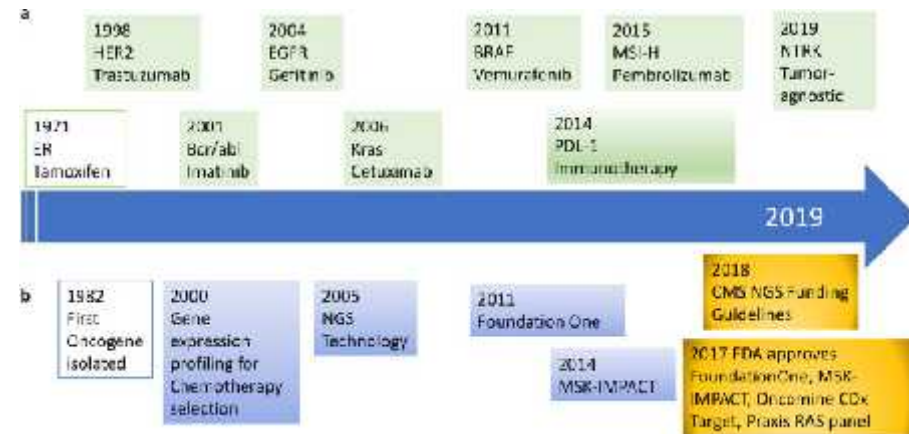
- „свака карактеристика повезана са одговором или недостатком одговора на одређену терапију“



Clark GM. Prognostic and predictive factors. In: Harris JR, ed. Diseases of the Breast. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:489–514.

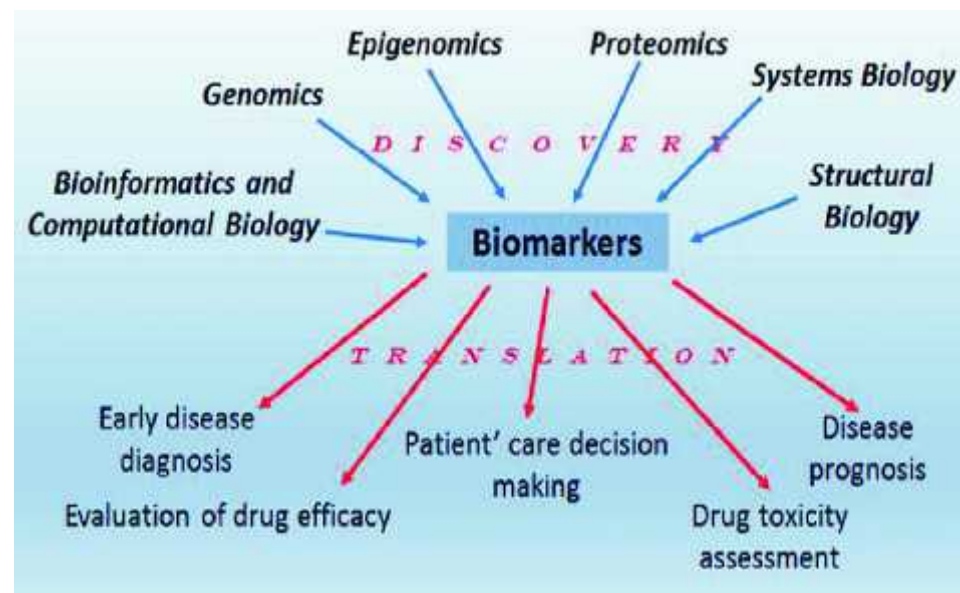
БИОМАРКЕРИ - предикција

- **ЗНАЧАЈНА УПОТРЕБА**
- Без обзира на значај примене биомаркера у предвиђању одговара на специфичну, циљану терапију, њихова селективност у употреби и малобројност ограничава и генерални успех лечења онколошких пацијената.



БИОМАРКЕРИ - предикција

- **ВЕЛИКИ ПОТЕНЦИЈАЛ И МОЋНО ТЕРАПИЈСКО ОРУЖЈЕ У БУДУЋНОСТИ**
- Нова сазнања омогућиће боље разумевање настанка и лечења малигних тумора, посебно у научној сфери откривања гена и секвенционирања хуманог генома, откривања функције и целуларне локализације свих протеина, откривања протеина у рекомбинованом облику и њихове структуре на тродимензионалном нивоу, дефинисање нових сигналних путева и молекула који у њему учествују, дефинисање нуклеотидних полиморфизама хуманих гена, соматских и наследних мутација повезаних са настанком тумора, а посебан значај ће имати развој биоинформатике и вештачке неуралне мреже.



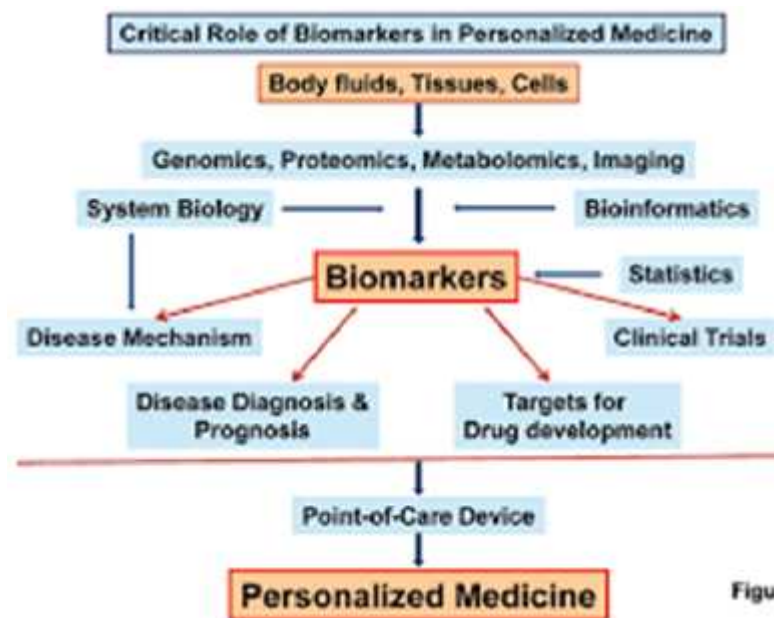
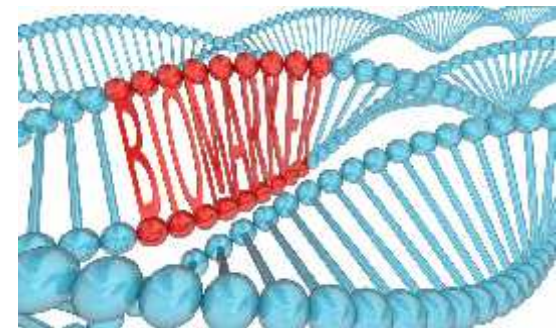
КРАЈЊИ ЦИЉ УПОТРЕБЕ БИОМАРКЕРА: ПЕРСОНАЛИЗОВАНА МЕДИЦИНА

- Savremena naučno-medicinska dostignuća diktiraju nove strategije u lečenju:

individualni pristup



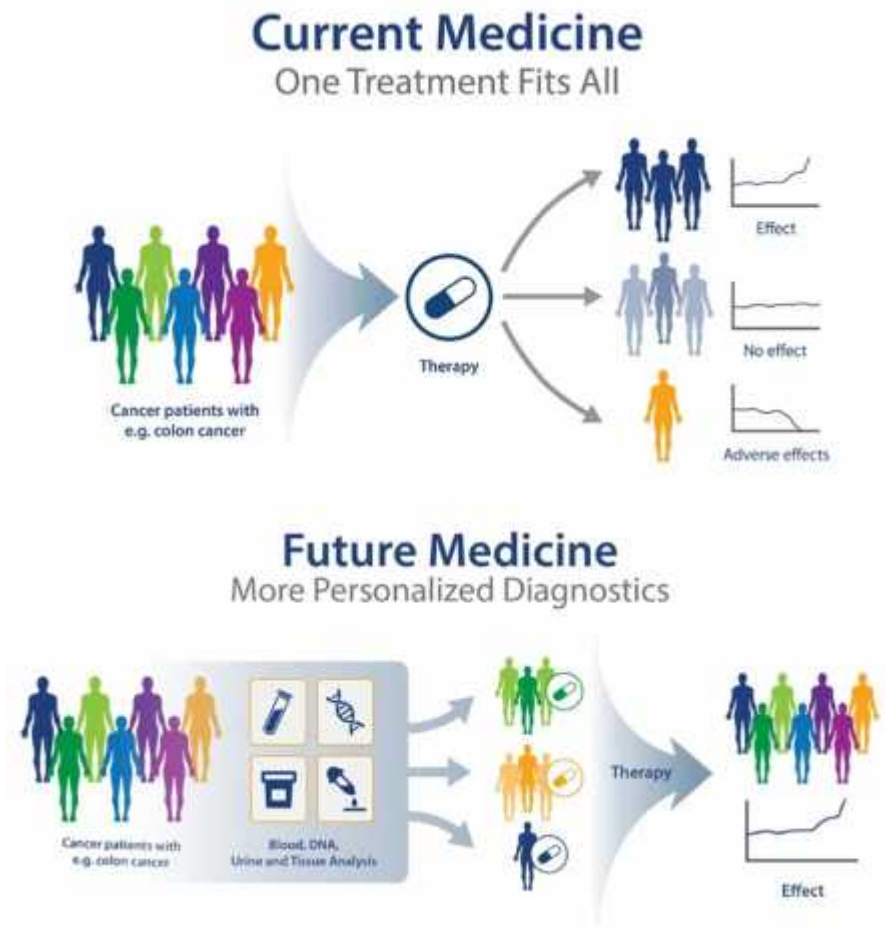
ciljana terapija



Figure

ПЕРСОНАЛИЗОВАНА МЕДИЦИНА

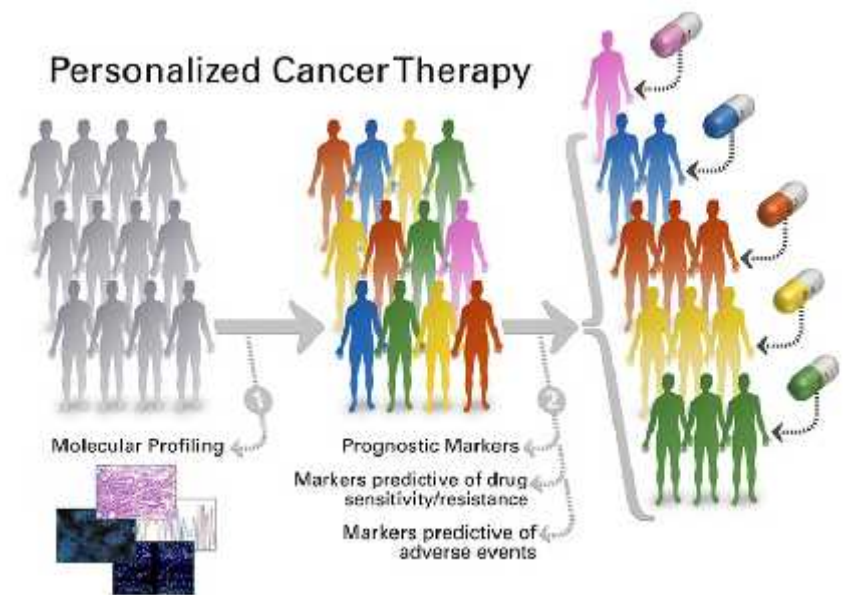
- Проналазак и примена биомаркера до данас, највећи успех је постигла у лечењу малигних болести.
- од будућих истраживања се очекује доказ о могућности терапијске примене нових биомаркера и трансформација класификација тумора на основу молекуларног експресијског профила.
- Формиране селекције пацијената омогућиће индивидуалан приступ лечењу и примену најадекватније терапије за сваког појединца у датом моменту постављене дијагнозе.

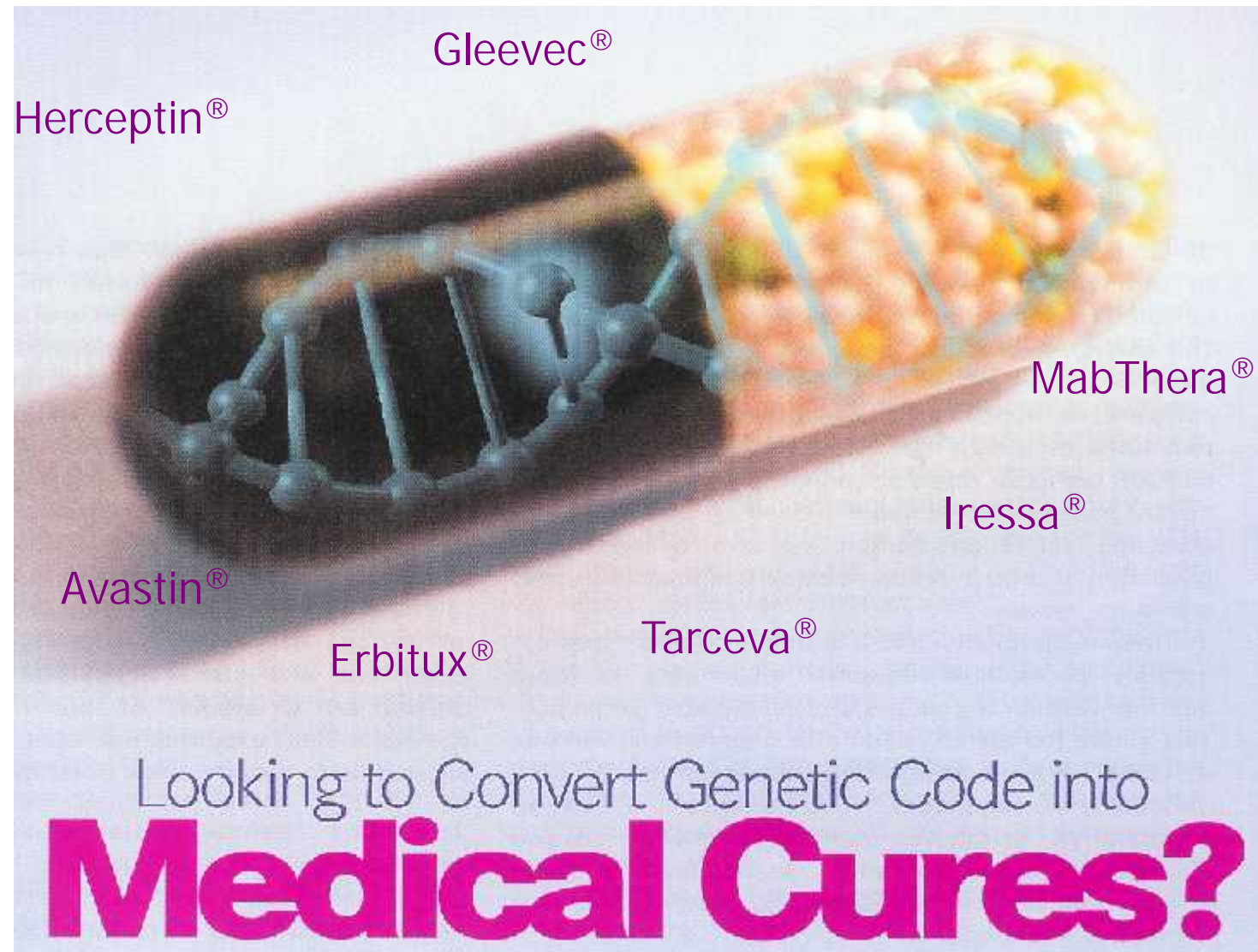


ПЕРСОНАЛИЗОВАНА МЕДИЦИНА

Применом биомаркера највећи успех до данас постигнут у лечењу:

- карцинома дојке,
- хематолошких малигнитета
- колоректалног карцинома
- ГИСТ-ома
- карцинома плућа



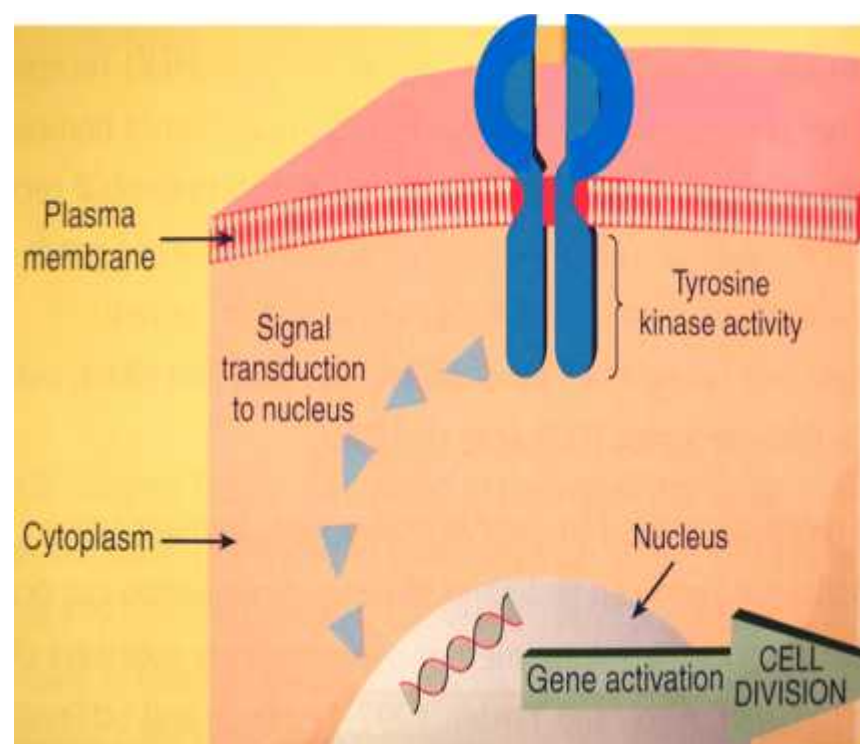


ПРЕДИКТИВНИ БИОМАРКЕРИ

- ПРЕЗЕНТАЦИЈА НАЈБОЉЕ ПРОУЧЕНОГ ПРЕДИКТИВНОГ БИОМАРКЕРА:

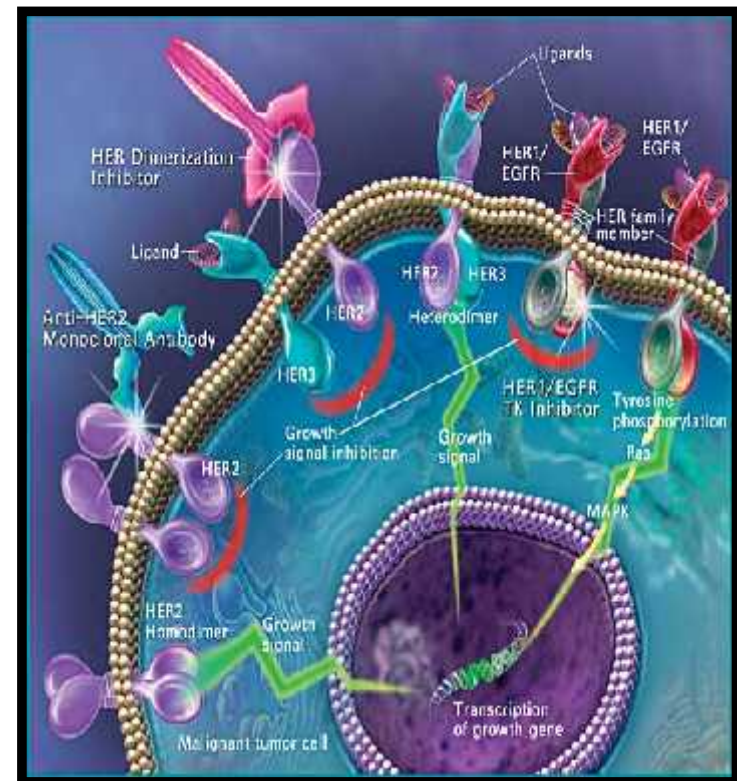
(HER-2)

2

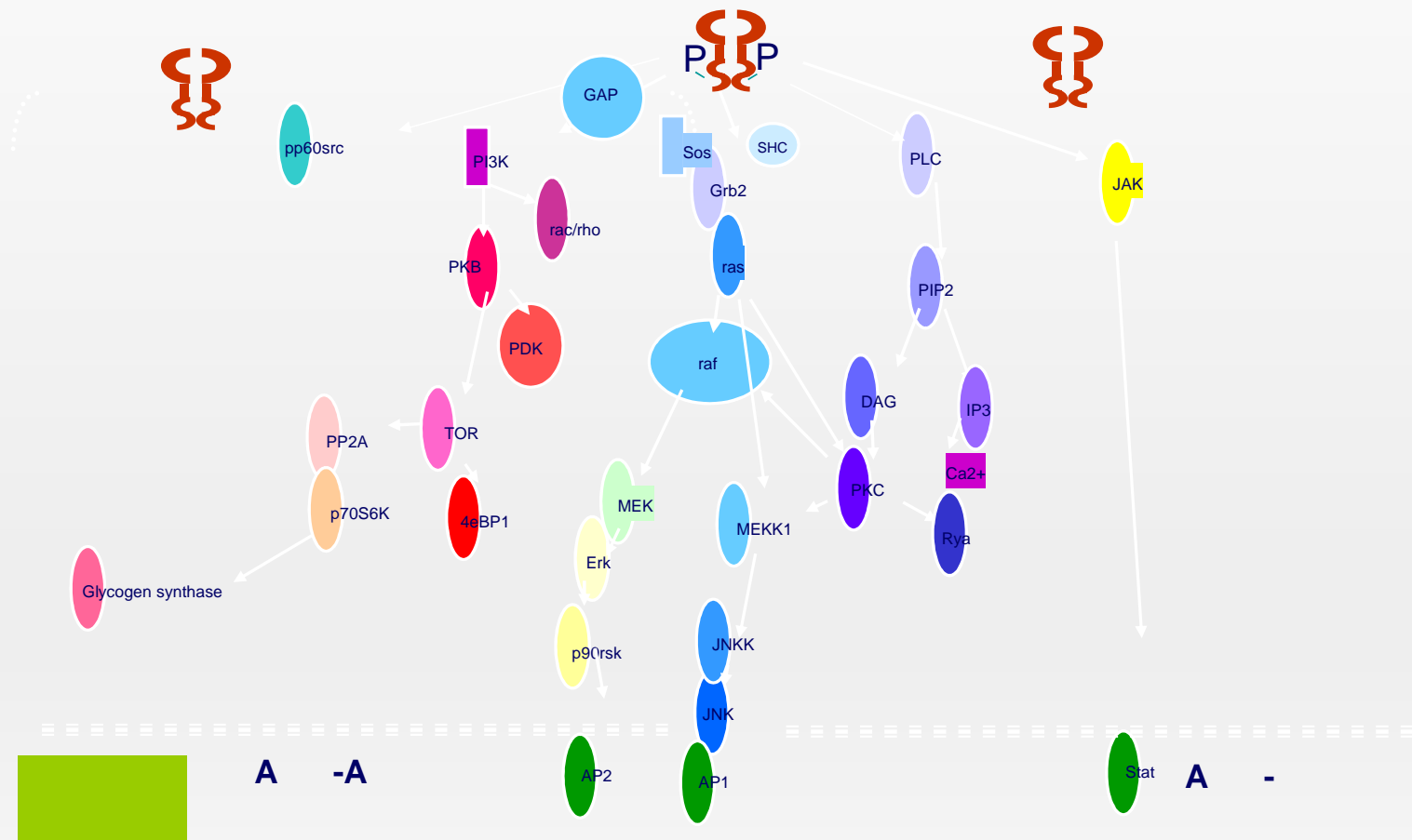


2 (*HER-2*)

- ***ERB-B2*** *HUGO*
Gene Nomenclature
v-erb-b2 ().
- *NEU, NGL, TKR1,*
HER-2, *c-erb B2, HER-2/neu.*
- (1- 4)
- 17q21,
2, 185
(p185 *HER-2*),
-



HER-2



•

50.000

HER-2,

3

,

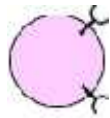
.

•

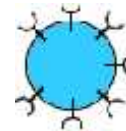
HER-2

.

(over)



20.000 - 50.000



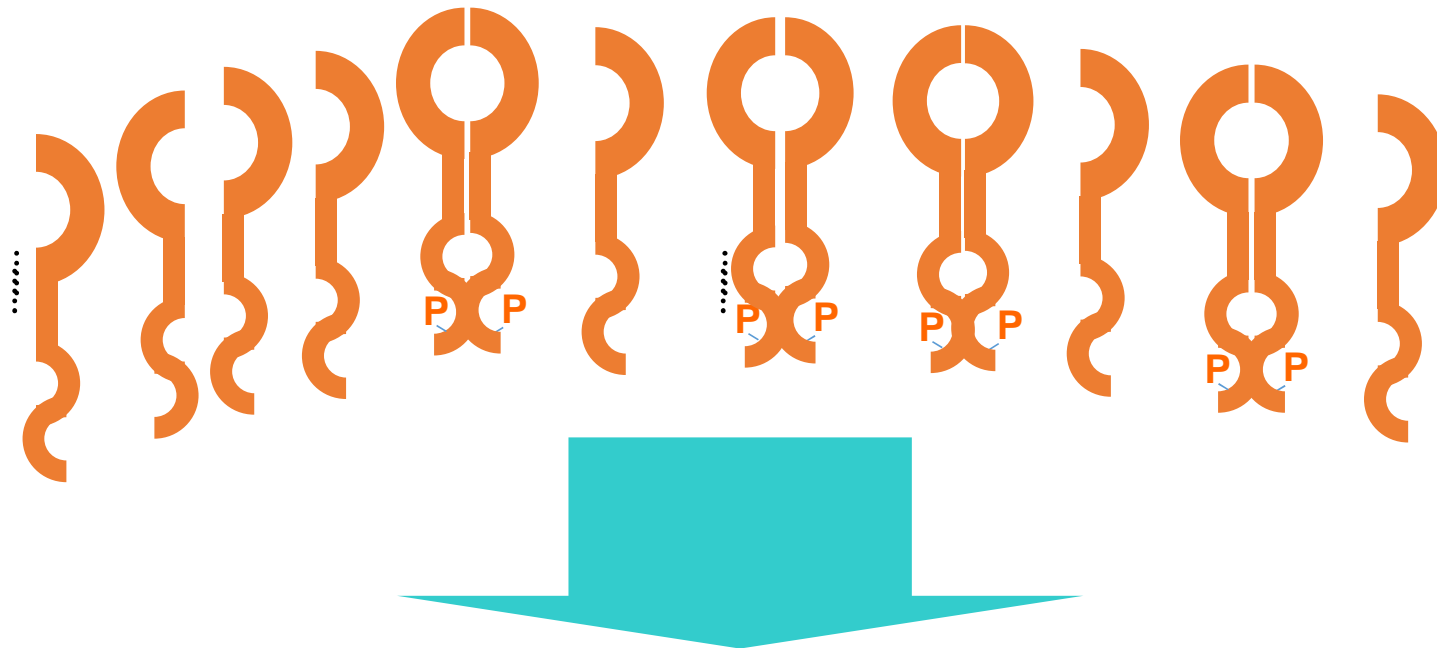
„ ver“

200.000 - 3.000.000



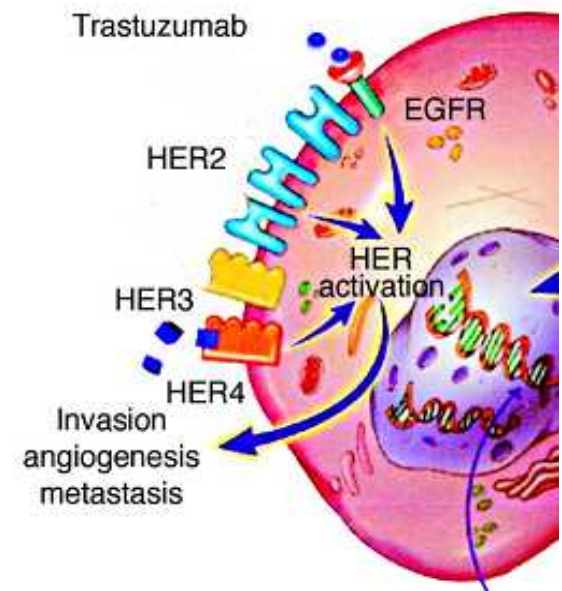
HER-2

HER-2

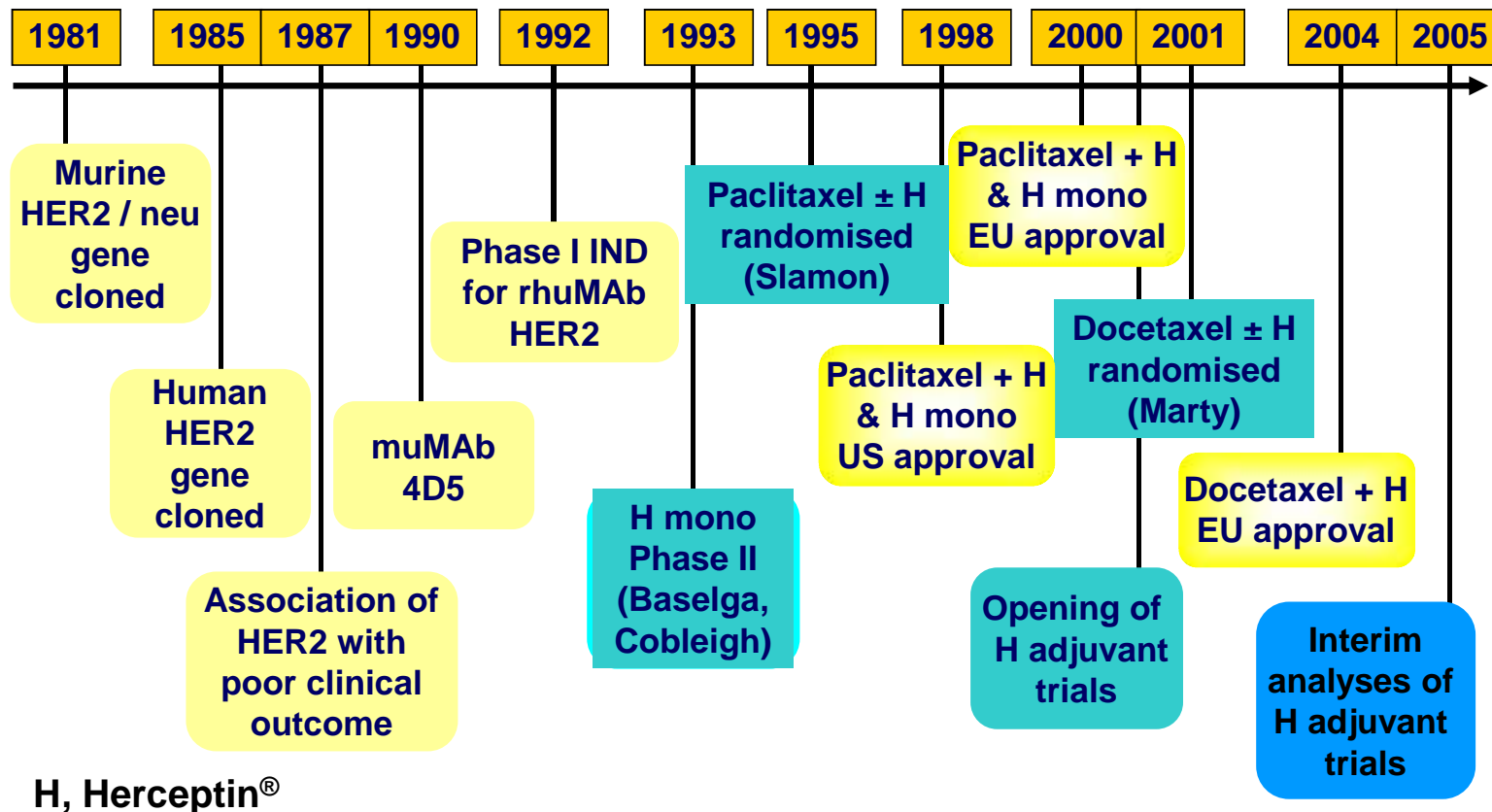


2 (*HER-2*)

- *over*
- Амплификација HER2 гена:
5–30% свих тумора
20–30% карцинома дојке



ДУГА ИСТОРИЈА HER-2 МОЛЕКУЛА.....



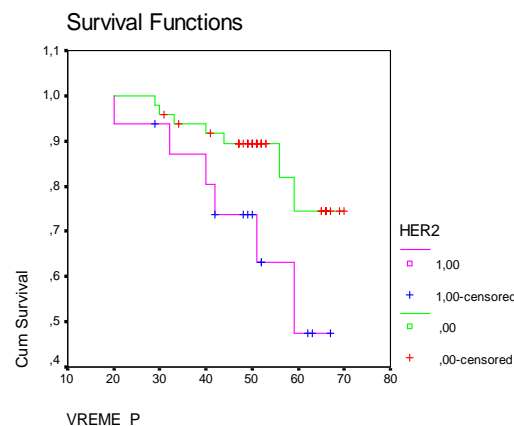
ДУГА ИСТОРИЈА HER-2 МОЛЕКУЛА.....

- Септембра 1998, FDA (USA) одобрио употребу HERCEPTIN® -а (Genentech) и HercepTest™-а (DAKO).
 - HercepTest™ је стандардизовани тест за квантификацију прекомерне експресије HER-2 у ткиву карцинома дојке.
 - Резултат HercepTest-а™ је укључујући/искључујући критеријум за примену HERCEPTIN® терапије
 - АЛМС РС 2005. године уводи HERCEPTIN® у стандардне протоколе лечења карцинома дојке.
- ✓ 81 студија са 27,161 укључених пацијената. (Ross et al, 2003)
 - ✓ У резултатима 73/81 студије (90%), прекомерна експресија HER2 је повезана са лошом прогнозом.
 - ✓ У резултатима 52/73 студије (71%), исход болести је независан прогностички фактор у мултиваријантним анализама.
 - ✓ HER-2 је 2005. прихваћен као независан прогностички и предиктивни фактор (Int. Cons. Guidelines, St. Gallen, 2005)

HER-2

?

- Терапија HERCEPTIN-ом[®] је пионир у персонализованој терапији.
- HER-2 статус у ткиву карцинома дојке дефинише терапијску одлуку (HERCEPTIN[®])
- HER-2 статус је предиктор одговора на терапију HERCEPTIN-ом[®]
- Терапијски одговор је у корелацији са степеном прекомерне експресије HER-2
- Стандардизација HER-2 тестирања и интерпретација резултата је апсолутни императив, уз прецизно раздвајање HER-2+ / HER-2 – карцинома дојке.
- HER-2 позитивност је независан прогностички фактор и статистички значајно утиче на преживљавање.





Хвала на пажњи!