



FLÜSSIGBIOPSIE IN DER ONKOLOGIE

Unter Flüssigbiopsie (LB) versteht man im Allgemeinen die genetische Analyse von zellfreier Tumor-DNA (ctDNA) und -RNA (ctRNA), die von Tumoren in das periphere Blut oder andere Körperflüssigkeiten wie Liquor, Ergüsse und Urin freigesetzt wird. Tatsächlich können im Plasma von Krebspatienten tumorspezifische Varianten der DNA-Sequenz, der Kopienzahl, aber auch Genfusionen nachgewiesen werden, welche Patienten möglicherweise einer personalisierten Behandlung zuführen können¹.

Derzeit wird die LB hauptsächlich für den Nachweis von aktivierenden *PIK3CA*-Varianten bei Patientinnen mit Hormonrezeptor-(HR-)positiven metastasierten Mammakarzinomen und für die Identifizierung von Resistenzmutationen bei Patienten mit Tyrosin-kinase-Inhibitor behandelten, *EGFR*-mutierten Lungenkarzinomen eingesetzt. Wenn kein geeignetes formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes (FFPE) Gewebe zur Verfügung steht, können durch eine LB-Genotypisierung potenziell Tumor-spezifische genetische Veränderungen nachgewiesen werden, welche prädiktiv sind für das Ansprechen auf eine gezielte medikamentöse Therapie. Das National Comprehensive Cancer Network (NCCN) empfiehlt bei allen Patienten mit einem nicht-squamösen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom zum Zeitpunkt der Diagnose eine LB-Genotypisierung, wenn kein geeignetes Gewebe verfügbar ist. Da zellfreie Nukleinsäuren aus verschiedenen Bereichen eines Tumors resp. unterschiedlichen Lokalisationen (Metastasen) freigesetzt werden, widerspiegelt die LB-Genotypisierung die genomische Heterogenität eines Tumors nachweislich besser als eine Biopsie entnommen von einer einzigen Lokalisation. Die klinische Anwendung der LB-Genotypisierung könnte sich schon bald ausweiten, da in klinischen Studien ihr Potential bei der Erkennung von minimalen Tumorresiduen, bei der Entscheidungsfindung hinsichtlich adjuvanter Behandlung, bei der frühzeitigen Erkennung von Tumorrezidiven und bei der Überwachung des Ansprechens auf eine Behandlung nachgewiesen wurde.²

Der Erfolg der LB-Genotypisierung hängt von der Menge der im Plasma vorhandenen ctDNA ab, die wiederum von der Tumormasse, der Tumorkonzentration, aber auch vom Tumortyp beeinflusst wird. Der Anteil der ctDNA im Verhältnis zur aus Nicht-Tumorzellen stammenden zellfreien DNA ist nicht bekannt. Daher könnte der fehlende Nachweis einer tumorspezifischen genetischen Veränderung auf ein falsch-negatives Ergebnis aufgrund einer geringen Menge an ctDNA zurückzuführen sein. In diesen Fällen wird eine Wiederholung der Genotypisierung am FFPE-Gewebe empfohlen.

Methode und Ergebnisse

Peripheres Blut muss in Cell-Free-DNA-BCT®-CE-(Streck-)Röhrchen bereitgestellt werden, welche die zellfreie DNA stabilisieren und die Freisetzung genomischer DNA für mehrere Tage verhindern, wodurch eine Verdünnung der ctDNA in genomischer DNA verhindert wird. Nach der Extraktion der zellfreien Nukleinsäuren erfolgt ein Next-Generation-Sequencing (NGS) mit dem Oncomine™ Precision Assay auf der Genexus™-Plattform (Thermo Fisher).

Mit dem Oncomine Precision Assay werden Hot-Spot-Mutationen in 45 Genen, Varianten der Kopienzahl in 14 Genen und Genfusionen von 19 potenziell relevanten Krebstreibergenen untersucht (vollständige Liste der Gene siehe unten). Beispielsweise können in einer LB von Patientinnen mit HR-positiven metastasierten Mammakarzinomen potenziell Sequenzvarianten von *PIK3CA* und *ERBB2* nachgewiesen werden, welche auf eine zielgerichtete Therapie ansprechen. Es lassen sich zudem *ERBB2/HER2*-Amplifikation oder *NTRK*-Genfusionen nachweisen, sowie Varianten in anderen Genen, welche die Aufnahme von Patientinnen in klinische Studien ermöglichen können. Neben einer detaillierten Beschreibung der Varianten, ihrer klinischen Bedeutung und möglicher gezielter Behandlungsoptionen enthält der Bericht gegebenenfalls auch eine Liste aktueller klinischer Studien.

Wichtige Punkte

- Probe: zwei Fläschchen Blut in Cell-Free-DNA-BCT-CE-(Streck-)Röhrchen, bei Raumtemperatur an MEDISYN Bioggio zu versenden.
- Streck-Röhrchen können direkt bei MEDISYN bestellt werden
F-CH: commandes.ch@medisyn.ch
D-CH: customerservice.ch@medisyn.ch
I-CH: info.ticino@medisyn.ch
- Analysemethode: NGS mit dem Oncomine Precision Assay (Thermo Fisher).

Hinweis

- Bearbeitungszeit: 5-10 Tage.
- Abrechnung nach TARMED: TARMED-Position 37.0570 (6x).
- Kostenübernahme durch die Basiskrankenversicherung.
- Der Test kann nicht verwendet werden, um die Eignung von Patienten mit einem metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinom für eine PARP-Inhibitor-Therapie zu beurteilen. Das Panel enthält keine Gene, die an der durch homologe Rekombination vermittelten DNA-Reparatur beteiligt sind (z. B. *BRCA1*, *BRCA2*).

Anwendungen

- Analyse von zielgerichtet ansteuerbaren *PIK3CA*-Varianten bei Patientinnen mit einem HR-positiven metastasierten Mammakarzinom
- Analyse von *EGFR*-Resistenzmutationen bei Patienten mit einem *EGFR*-mutierten Lungenkarzinom
- LB-Genotypisierung bei Patienten mit soliden Tumoren (Kolonrektalkarzinom, NSCLC, Mammakarzinom) zur Entdeckung potentieller Wirkstoffziele, wenn kein geeignetes FFPE-Gewebe verfügbar ist.

Mittels Flüssigbiopsie festgestellte genetische Veränderungen, die Einfluss auf die Behandlung haben könnten

Tumortyp	Genetische Veränderung	Gezielte Behandlung
Alle soliden Tumoren	<i>NTRK</i> -Fusionen	Larotrectinib
Mammakarzinom	<i>PIK3CA</i> -Mutation <i>ERBB2/HER2</i> -Amplifikation	Alpelisib Anti-HER2 Therapie
Kolonrektalkarzinom	Alle <i>RAS</i> -Mutationen <i>ERBB2/HER2</i> -Amplifikation	Resistenz gegen Anti-EGFR-Therapie Anti-HER2 Therapie
Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)	<i>BRAF</i> V600-Mutationen <i>EGFR</i> -Mutationen <i>ERBB2</i> -Mutationen <i>KRAS</i> p.G12C-Mutationen <i>MET</i> exon 14-Skipping-Mutationen <i>ALK</i> -Fusionen <i>NTRK</i> -Fusionen <i>RET</i> -Fusionen <i>ROS1</i> -Fusionen	Dabrafenib + Trametinib Osimertinib und andere TK-Inhibitoren Antikörper-Wirkstoff-Konjugate Sotorasib Capmatinib, Tepotinib Alectinib und andere ALK-Inhibitoren Larotrectinib Selpercatinib und andere RET-Inhibitoren Entrectinib, Crizotinib

Literatur:

- 1: Rodriguez J et al. *Oncol Ther* (2021) 9:89-110. doi.org/10.1007/s40487-021-00144-6.
- 2: Pascual J et al. *Annals of Oncology* (2022) 33(8):750-768. doi.org/10.1016/j.annonc.2022.05.520.



Liste der analysierten Gene

Hotspots					Kopienzahlvarianten		Inter-/intragenetische Fusionen	
AKT1	CHEK2	FGFR3	KIT	NTRK3	ALK	FGFR1	ALK	ROS1
AKT2	CTNNB1	FGFR4	KRAS	PDGFRA	AR	FGFR2	NTRK2	RSPO2
AKT3	EGFR	FLT3	MAP2K1	PIK3CA	CD274	FGFR3	BRAF	MET
ALK	ERBB2	GNA11	MAP2K2	PTEN	CDKN2A	KRAS	NTRK3	RSPO3
AR	ERBB3	GNAQ	MET	RAF1	EGFR	MET	ESR1	NRG1
ARAF	ERBB4	GNAS	MTOR	RET	ERBB2	PIK3CA	NUTM1	NTRK1
BRAF	ESR1	HRAS	NRAS	ROS1	ERBB3	PTEN	FGFR1	AR
CDK4	FGFR1	IDH1	NTRK1	SMO			RET	EGFR
CDKN2A	FGFR2	IDH2	NTRK2	TP53			FGFR2	MET
							FGFR3	

Mögliches beispielhaftes Ergebnis

Varianten von diagnostischer, prognostischer und therapeutischer Relevanz laut ESMO/NCCN

Gen	Variante	Klassifikation gemäss ACMG, AMP/ASCO/CAP	ESCAT-Klassifikation	Wirkstoff - Ziel
PIK3CA	p.E545K (pathogen) NM_006218.4 : c.1633G>A MAF : 24.1%	IA	IA	Zielgerichtete Therapie mit PIK3-Inhibitoren
ESR1	Negativ für pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten			
ERBB2	Negativ für pathogene/wahrscheinlich pathogene Varianten Negativ für Kopienzahlveränderungen			

Luzern, Januar 2023

Ansprechpartner MEDISYN SA

Dr. med. Ines Raineri
 FMH Pathologie, Leiterin Molekularpathologie
 Dr. sc.nat. Giuditta Filippini
 FAMH Medizinische Genetik, Leiterin Genetik Tessin
 Dr. phil. Nadia Fiandanese, PhD
 Dr. D. phil. Michael Morris
 FAMH Medizinische Genetik, Leiter Genetik