

Gasztrointesztinális tumorok molekuláris patológiája

STRAUSZ TAMÁS, BÁTHORY-FÜLÖP LÁSZLÓ, PAPP ESZTER, TÓTH ERIKA

Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Strausz Tamás, Országos Onkológiai Intézet,
Daganatpatológiai Központ, Sebészeti és Molekuláris
Patológiai Osztály, 1122 Budapest, Ráth György u. 7-9.,
e-mail: drstrausz@gmail.com, tel.: 06-30-6552119

Közlésre érkezett:

2024. november 4.

Elfogadva:

2024. november 20.

A szolid tumorok molekuláris patológiai vizsgálata a szövettani diagnózis alátámasztása mellett az örökletes eltérések, illetve a prediktív biomarkerek kimutatása miatt is kiemelten fontos. A prediktív markerek elemzése a betegek kezelését közvetlenül befolyásoló patológiai vizsgálatokat jelenti; a személyre szabott daganatellenes kezelés alapja. Ezek részben már hagyományosnak mondható immunhisztokémiai reakciókkal történnek, részben molekuláris genetikai módszerekkel. A preanalitika mindkét vizsgálati módszernél rendkívüli jelentőséggel bír, és az alkalmazott vizsgálatokat standardizált, reprodukálható technikával kell végezni. A közleményben a gyakori gasztrointesztinális daganattípusok prediktív biomarkereivel és molekuláris patológiájával foglalkozunk. A vastagbél-karcinóma – mely a malignus gasztrointesztinális tumorok közül a leggyakoribb – molekuláris diagnosztikájában a MAPK-út vonal aktiváló mutációinak (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*) vizsgálata mellett a mikroszatellita-instabilitás és a *HER2*-amplifikáció kimutatása bír jelentőséggel. A gyomortumorok biomarkerei, beleértve a legújabb kludin 18.2 expresszióját is, jól vizsgálhatók immunhisztokémiai módszerekkel. A gasztrointesztinális stromális tumorok imatinibérzékenységét molekuláris vizsgálattal kell alátámasztani. Hasnyálmirigy-rákos betegek kezelésében némileg jobb túlélés várható a mikroszatellita-instabil és *BRCA*-mutáns esetek specifikus terápiájával. Az epeúti tumorok, ezek közül is az intrahepatikus kolangiokarcinóma „kis duktusz” típusú formájában az *IDH1*-mutációk és *FGFR2*-fúziók vizsgálata szintén újabb terápiás lehetőséget nyújt. *Magy Onkol* 68:325-331, 2024

Kulcsszavak: molekuláris patológia, prediktív biomarker, kolorektális karcinóma, gyomor-adenokarcinóma, hasnyálmirigy-adenokarcinóma

*The molecular pathological examination of solid tumors is essential not only for supporting histological diagnosis but also for detecting hereditary variations and predictive biomarkers. Analyzing predictive markers is fundamental to personalized cancer therapy, directly affecting patient care through pathological testing. These analyses employ both traditional immunohistochemical staining methods and molecular genetic techniques. In both approaches, preanalytics is of critical importance, necessitating the adoption of standardized and reproducible processes. Molecular diagnostics in colorectal cancer focuses on detecting activating mutations in the MAPK pathway (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*), as well as evaluating microsatellite instability and *HER2* amplification. Immunohistochemical methods can effectively identify biomarkers for gastric cancers, including the novel cludin18.2. The responsiveness of gastrointestinal stromal tumors to imatinib requires validation via molecular testing. Patients diagnosed with pancreatic cancer may see enhanced survival rates by targeted therapy addressing microsatellite instability and *BRCA* mutations. In bile duct malignancies, especially intrahepatic cholangiocarcinoma of the small duct variant, the analysis of *IDH1* mutations and *FGFR2* fusions presents new treatment prospects.*

Strausz T, Báthory-Fülöp L, Papp E, Tóth E. Molecular pathology of gastrointestinal neoplasms. Magy Onkol 68:325-331, 2024

Keywords: molecular pathology, predictive biomarker, colorectal cancer, gastric cancer, pancreatic cancer

KOLOREKTÁLIS KARCINÓMA (CRC) (1. táblázat)

A TCGA (The Cancer Genome Atlas) adatbázisban a vastagbél-rákok genetikai beosztása hipermutált és kromoszómainstabil csoportokra osztotta a tumorokat, később – a transzkripció profilok figyelembevételével – négy konszenzus molekuláris szubtypust írtak le (CMS 1–4). A hipermutált csoport lényegében megfelel a CMS1 szubtypusnak, ami a mikroszatellita-instabil (MSI) daganatokat fed le. Ebben a csoportban gyakori a *BRAF*-mutáció előfordulása is [1, 2]. A további csoportok kevésbé írhatók le egy kiemelt molekuláris eltéréssel, így jelenleg nem a molekuláris altípusok, hanem a valamennyi szubtypusban változó százalékban megjelenő prediktív mutációk kimutatása a molekuláris vizsgálatok célja.

Az irányelvek szerint lokalizált tumorokban a mismatch repair fehérje deficiencia (dMMR) vizsgálata minden reszekciós preparátumból kötelező [3]. Lokalizált tumorokban a cél elsősorban a Lynch-szindróma kiszűrése, másrészt a dMMR tumorok jobb prognózisúak és kevésbé reagálnak 5-fluorouracil-alapú adjuváns kemoterápiára. Mivel a reszekatúmok vizsgálata decentralizálva történik, így a mindenhol elérhető, immunhisztokémiai reakciókkal végzett mismatch-repair (MMR) fehérjeexpresszió kimutatása a kötelezően elvégzendő vizsgálat. Az MMR-fehérjék expressziójának kiesési mintázata alapján már következtetni lehet a mikroszatellita-instabilitás sporadikus vagy öröklődő eredetére. A kolorektális karcinómák 15%-a mutat mikroszatellita-instabilitást, az esetek többsége sporadikus (összes CRC 10–11%-a), ezekben a tumorokban az MLH1 fehérje génjének promótermetilációja okozza a fehérje expressziójának csökkenését és funkciójának kiesését. Az öröklődő mikroszatellita-instabil (Lynch-szindrómás) esetekben (összes CRC-eset 4–5%-a) másik három MMR-fehérje (MSH2, MSH6, PMS2) génjének csírasejtes mutációja okozza a fehérje expressziójának hiányát. *MLH1*-génmutáció Lynch-szindrómás betegekben is előfordul, ilyenkor a sporadikus és örökletes ok elkülönítésére kiegészítő molekuláris vizsgálatra van szükség. Az *MLH1*-fehérjevesztést mutató tumorokban végzett *BRAF* V600E mutáció analízise kiszűri a sporadikus esetek kétharmadát. A vizsgálat alternatívája a jóval drágább és nagyobb munkaigényű promótermetilációs teszt [4]. A *BRAF* vad típusú tumoroknál, főleg családi halmozódás és fiatal beteg

esetén genetikai konzultáció javasolt. A beteget minden más MMR-fehérje kiesésénél is genetikai tanácsadásra kell irányítani. Számos tanulmány foglalkozik a mikroszatellita-instabil, lokalizált végbél- és vastagbélkarcinómák neoadjuváns immunellenőrzőpont-gátlószer terápiájával. Az eredményeik alapján valószínűleg hamarosan ez is egy terápiás lehetőség lesz, és már biopsziás mintákból el kell majd végezni az MMR immunhisztokémiai reakciókat [5].

Metasztatikus vastagbél-karcinómákban a monoklonális EGFR-ellenes kezelés (cetuximab, panitumumab) negatív prediktorainak, az EGFR-jelátviteli útvonalban downstream előforduló aktiváló mutációk kimutatásának van kiemelt szerepe. A gyakoribb *KRAS*-mutációk mellett az *NRAS* gén ugyanazon exonjainak (2., 3. és 4. exon) mutációit vizsgáljuk. EGFR-ellenes monoklonális antitest kezelés elleni rezisztenciát jelez a *BRAF* V600E mutáció is.

Ezen mutációk jelenléte esetén a IV-es stádiumú betegek elsővonalbeli kezelésében angiogenezist gátló VEGF-gátlók (bevacizumab) választandók kemoterápiával kombinálva. A VEGF-gátló terápiának nincs prediktív markere. A mikroszatellita-instabilitás vizsgálata ebben a betegcsoportban is fontos, de elsősorban az immunellenőrzőpont-gátlószer iránti érzékenység miatt. A metastatikus kolorektális karcinómák 5%-a mutat mikroszatellita-instabilitást, ezen tumorokban első vonalban alkalmazott mono-immunterápia (pembrolizumab) ajánlott. Másodvonalban a *BRAF* V600E mutáns tumorok kezelhetők enkorafenib-cetuximab (*BRAF*-gátló és EGFR-gátló) kombinációs terápiával, így a *BRAF*-mutáció kimutatásának nemcsak a sporadikus mikroszatellita-instabil tumorok kiszűrésében és a monoklonális anti-EGFR terápia negatív predikciójában, hanem a *BRAF*-gátlók iránti érzékenység kimutatásában (pozitív predikció) is szerepe van.

Harmadvonalban *HER2*-amplifikált *RAS/BRAF* vad típusú tumorok esetén *HER2*-gátlószer is bevetethető [6]. Az amplifikáció kimutatása hasonló elvek alapján történik, mint a gyomortumoroknál.

A metastatikus esetek molekuláris patológiai vizsgálata központi laborokban történik.

A *RAS/BRAF* mutációk kimutatása történhet hagyományos PCR-alapú monogénes vizsgálatokkal, melyek során a gyakoribb *KRAS*-mutációkat (ami az összes CRC-eset 40%-ában

1. TÁBLÁZAT. Rutin molekuláris vizsgálatok vastagbél-karcinómákban

Gének	Gyakoriság	Célzott terápia	Vizsgálati módszer
<i>KRAS/NRAS/BRAF</i>	60%	cetuximab/panitumumab rezisztencia	monogénes vizsgálat, NGS
<i>KRAS</i> G12C	3–4%	szotoraszib, adagraszib+cetuximab	monogénes vizsgálat, NGS
MSI/dMMR	15% (metasztatikus esetek 5%)	pembrolizumab, nivolumab	immunhisztokémia, PCR-alapú technikák, NGS
<i>ERBB2</i>	5%	trasztuzumab	immunhisztokémia, ISH, NGS
<i>BRAF</i>	10%	enkorafenib+cetuximab	monogénes vizsgálat, NGS

megtalálható) vizsgáljuk először. *KRAS*-mutáció lényegében kizárja *NRAS*- és *BRAF*-mutáció jelenlétét, ezért ezen tumorokban további vizsgálatra nincs szükség. Természetesen új generációs szekvenálással (NGS) is vizsgálhatók a minták, ebben az esetben minden releváns gén egy futással analizálható.

A mikroszatellita-instabilitás vizsgálata történhet immunhisztokémiai reakciókkal (lásd fentebb), illetve funkcionális tesztekkel, melyek a mismatch repair rendszer funkcióját vizsgálják meghatározott marker mikroszatellita-régiók (általában 5 markerrégió) segítségével. Fontos kiemelni, hogy onkológiai szempontból a két vizsgálat egyenértékűnek tekinthető. A funkcionális tesztek PCR technikákkal és nagyobb NGS-panellel is végezhető. Utóbbiak jóval költségesebbek, de egyúttal az MMR-gének mutációinak kimutatására is alkalmasak.

Költséghatékonysági szempontokat is figyelembe véve a monogénes, szekvenciálisan elvégzett *KRAS/NRAS/BRAF* vizsgálat PCR-alapú MSI-kimutatással kombinálva jelenleg minden metasztatikus esetben ajánlott. Ezt *RAS/BRAF* vad esetekben HER2 immunhisztokémiai reakcióval egészíthetjük ki.

Egy vastagbélrákban ritka *KRAS*-mutációra, a *KRAS* G12C mutációra (összes CRC-eset 3-4%-a) specifikus irreverzibilis gátlószer (szotorasizib, adagrasizib+cetuximab) a közelmúltban kolorektális karcinómákban is megkapta az FDA-engedélyt. A mutáció szokványos monogénes *KRAS*-vizsgálattal kimutatható [7].

Az *NTRK*-fúzió mikroszatellita-instabil tumorokban kisé gyakoribb, de összességében rendkívül ritka CRC-ben (<1%), ezért rutinszerű vizsgálata nem ajánlott a jelenlegi irányelvek szerint [8].

GYOMOR-ADENOKARCINÓMA (GC) [2. táblázat]

A TCGA projektben négy genetikai szubtípusra osztották a gyomorkarcinómákat. Az Epstein-Barr-vírusra pozitív tumorok (1.) hazánkban ritkábbak, jó prognózisúak, magas PD-L1-expressziót mutatnak. A mikroszatellita-instabil tumorokban (2.) a mismatch repair (MMR) fehérjék mutációi vagy promotereik hipermetilációja mutatható ki. A kromoszómainstabil csoportba (3.) sorolhatók a klasszikus *Helicobacter pylori* okozta, intesztinális fenotípusú tumorok, de a Barrett-metaplázia talaján kialakult nyelőcső-adenokarcinómák jó része is. Ezekben gyakrabban fordul elő *HER2*-alteráció. A genetikailag stabil csoportba (4.) a Lauren szerint diffúz típusú rákok tartoznak [9].

A gyomorkarcinómák a genetikai eltérések vonatkozásában kifejezett heterogenitást mutatnak a primer tumoron belül, de a primer tumor és nyirokcsomóáttéte, valamint távoli áttéte között is. Ez komoly problémák forrása lehet a kis biopsziás mintákon végzett prediktív biomarker-meghatározás esetén. A fals negatív és fals pozitív eredmények elkerülése miatt többszörös mintavétel lenne biztonságos, ezért például *HER2*-státusz meghatározásához – az irányelvek szerint – minimum 5 tumort tartalmazó biopsziás mintára lenne szükség. Az említett heterogenitás miatt az áttétek biomarker-vizsgálata is előnyös lenne, de a tumoros betegség

viszonylag gyorsabb lefolyása és a betegek rossz állapota miatt ez sokszor nem kivitelezhető [10].

Lokalizált gyomortumorokban, hasonlóan a vastagbél-karcinómákhoz, mikroszatellita-instabilitás vizsgálata javasolt a reszekciós preparátumon. Ez általában immunhisztokémiai reakciókkal történik, de természetesen PCR-alapú módszerek is alkalmazhatók. Egyes tanulmányok szerint az adjuváns kemoterápia a mikroszatellita-instabil csoportban rontja a betegek túlélését [11], illetve családi halmozódást mutató vagy fiatal betegekben genetikai konzultáció indikációját képezi Lynch-szindróma kizárása miatt.

Inoperábilis, metasztatikus esetekben a mikroszatellita-instabilitás mellett *HER2*-expresszió és PD-L1-expresszió meghatározása is szükséges. Mivel mindhárom vizsgálat megbízhatóan végezhető standardizált, pozitív és negatív kontrollokat is tartalmazó immunhisztokémiai reakciókkal, így gyomorkarcinómákban az esetek többségében NGS-vizsgálat nem történik.

A *HER2* immunhisztokémiai reakció értékelése eltér az emlőkarcinómákban alkalmazott módszertől: gyomortumorokban nemcsak a körkörös, hanem a bazolaterális festődést is figyelembe vesszük, továbbá eltérő az értékelés biopsziás minta és reszekciós preparátum esetén. 2+ (bizonytalan) esetekben reflex ISH (*in situ* hibridizáció) vizsgálat történik, mely során a *HER2* gén kópiaszámát a 17-es kromoszóma centromerrégiójának kópiaszámához viszonyítjuk. Az ISH-vizsgálat alapján amplifikált, valamint az immunhisztokémiai 3+ (pozitív) esetek palliatív kemoterápiás kezelése *HER2*-ellenes kezeléssel (trasztuzumab) egészíthető ki [12].

Ebben a betegcsoportban a mikroszatellita-instabilitás és a PD-L1-expresszió is az immunellenőrzőpont-gátlószer iránti érzékenység prediktív markere. A pembrolizumab tumoragnosztikus indikációval rendelkezik mikroszatellita-instabil tumorokban, így mikroszatellita-instabil gyomorkarcinómában is alkalmazható. A PD-L1 immunhisztokémiai reakció értékelésekor gyomortumorokban a CPS-t (combined positive score) használjuk, mely nemcsak a tumorsejtek, ha-

2. TÁBLÁZAT. Rutin molekuláris patológiai vizsgálatok gyomor-adenokarcinómákban

Gének/fehérjék	Gyakoriság	Célzott terápia	Vizsgálati módszer
<i>ERBB2</i>	14–22%	trasztuzumab	immunhisztokémia, ISH, NGS
MSI/dMMR	3–7%	pembrolizumab	immunhisztokémia, PCR-alapú technikák, NGS
PD-L1	CPS >1: 67–82%	pembrolizumab	immunhisztokémia
	CPS >5: 29–60%	nivolumab	immunhisztokémia

nem a környező gyulladásos sejtek festődését is figyelembe veszi. Bár a különböző checkpoint inhibitorokhoz különböző immunhisztokémiai anti-PD-L1 ellenanyagklónok tartoznak, a keresztvalidáció miatt elég lehet egy immunhisztokémiai festés is. Ha a CPS >1, akkor pembrolizumab-, ha pedig >5, akkor nivolumabterápia is adható. A HER2-pozitív esetekben a trastuzumab kombinálható pembrolizumabbal, amennyiben a CPS >1 [13].

A klauudin18.2 elleni antitest zolbetuximab idén szeptemberben EMA-jóváhagyást kapott előrehaladott gyomorkarcinómák kezelésére. A klauudin18 a tight-junction sejtkapcsoló struktúra része, a klauudin18.2 ennek a gyomorban expresszált izoformája. Prediktív markere a CLDN18 immunhisztokémiai reakció. A tumorsejtek >75%-ában látott középérős vagy erős membránfestődést értékeljük pozitívnak. Kiemelendő, hogy a pozitívitas gyakoribb fiatalabb betegek diffúz típusú tumoraiban, melyek a hagyományos kemoterápiára gyakran rezisztensek, és más célzott kezelések prediktív biomarkereivel általában negatívak [14]. A GLOW vizsgálatban a CAPOX (kapecitabin+oxaliplatin) mellett adott zolbetuximab a 12 hónapos progressziómentes túlélést 35%-ra emelte 19%-hoz képest [15]. A kezelés hazai elérhetőségéről egyelőre nincsenek adataink.

Előrehaladott vizsgálatok zajlanak FGFR2b immunhisztokémiai expressziót mutató gyomorkarcinómák kezelésében bemarituzumab antitesttel [16].

A magas mutációs teherrel bíró tumorok (tumor mutational burden-high, TMB-H) érzékenyek immunellenőrzőpont-gátlószer kezelésre, és ez az asszociáció akkor is megmarad, ha kizárjuk az elemzésből az MSI-H tumorokat. A TMB (hány szomatikus mutáció esik 1 megabázisnyi génszakaszra) meghatározásához azonban költségesebb, nagy NGS-panelre van szükség és a TMB-H küszöbértéke különböző platformokon eltér. A gyomorkarcinómákban végzett PD-L1 immunhisztokémiai reakció pozitivitása 90%-ban átfed a TMB-H csoporttal [17].

PANKREÁSZ DUKTÁLIS ADENOKARCINÓMA (PDAC)

(3. táblázat)

A hasnyálmirigy-karcinómák több mint 90%-ában KRAS-mutáció mutatható ki. Az esetek döntő többségében az azonosított mutáció terápiásan nem kihasználható, az eseteknek

csak 1–5%-ában azonosítható a már korábban is említett G12C mutáció, aminél specifikus gátlószer érhető el [18]. A hasnyálmirigy-rákot transzkripció profil alapján „bazális típusú” és „klasszikus” altípusokra osztották: az utóbbi csoport jobban reagált standard terápiára és kedvezőbb kimenetelt mutatott a COMPASS vizsgálatban [19]. A PDAC-esetek többsége sporadikus, familiáris PDAC előfordulása 4–10%. A pozitív családi anamnézissel rendelkező és magas kockázatú egyének genetikai tanácsadáson kell részt vegyenek. Az ASCO- és NCCN-ajánlások szerint minden újonnan diagnosztizált PDAC-s betegen csírasejtes mutáció vizsgálatot kell végezni [20].

Az ESMO-protokoll szerint előrehaladott tumorok esetében KRAS- és BRCA-tesztelés ajánlott [21]. A KRAS G12C gátlószeres (szotoraszib, adagraszib) kezelést a betegek jól tolerálják, de a hatás általában átmeneti. KRAS vad típusú tumorokban (az összes eset 10%-a, de fiatal betegek esetében akár 20% is lehet) további profilozás végezhető a ritka, potenciálisan targetálható mutációk kimutatására, úgy mint mikroszatellita-instabilitás (MSI), NTRK-fúzió, BRAF-mutáció, HER2-amplifikáció és RET-fúzió. Ez történhet NGS-vizsgálattal vagy célzott standard módszerekkel.

A hasnyálmirigy-rákok közel 20%-ában a DNS-javító (DDR) gének szomatikus vagy csíravonalbeli mutációja mutatható ki. Egyes DDR gének (BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C és RAD51D), de különösen a BRCA1 és BRCA2 biállélus inaktíválódása homológ rekombinációs repair deficienciához (HRD) vezethet. A HRD fokozza a sejtek érzékenységét az irreverzibilis DNS-károsodásokkal szemben [platinaszármazékok és poli-ADP-ribóz polimeráz (PARP) inhibitorok]. Sajnos már sokszor a PDAC diagnózisának felállításához is többszörös mintavételre van szükség, a minta gyakran minimális tumorsejtet és tumor-DNS-t tartalmaz, így NGS-vizsgálatra nem alkalmas. Mivel a jelen tumortípusban a BRCA-mutációk nagy része csírasejtes mutáció, a vérből végzett BRCA-vizsgálat jó alternatívát jelenthet. A fentebb nem említett DDR gének mutációi általában nem hoznak létre HRD fenotípust, továbbá nem minden BRCA1/2/PALB2 génmutáció vezet a fehérjefunkció elvesztéséhez. A funkcionális HRD értékelése tehát kulcsfontosságú a PARP-inhibitor-terápiából profitáló betegek azonosításában [22]. A HRD megállapítása komprehenzív genetikai profilozásra alkalmas 500+ génes NGS-panellel,

3. TÁBLÁZAT. Rutin molekuláris patológiai vizsgálatok hasnyálmirigy-adenokarcinómákban

Gének/fehérjék	Gyakoriság	Célzott terápia	Vizsgálati módszer
KRAS	90%	BRCA1/2 mutáción kívül egyéb targetálható mutációkat kizár	monogén vizsgálat, NGS
KRAS G12C (II. evidencia)	1–3%	szotoraszib, adagraszib	monogén vizsgálat, NGS
MSI/dMMR	1%	pembrolizumab	immunhisztokémia, PCR-alapú technikák, NGS
BRCA1/2	5–10%	platinaszármazékok, PARP-inhibitorok	NGS

4. TÁBLÁZAT. Epeúti tumorok fajtái és klinikopatológiai jellemzői

Típus	Intrahepatikus kolangiokarcinóma		Extrahepatikus kolangiokarcinóma
	kis duktusz típus	nagy duktusz típus	disztális és perihiláris CCA
Makroszkópos megjelenés	tumort formál	periduktálisan terjed	
Kiindulási sejt	interlobuláris duktusz	peribiliáris mirigyek	peribiliáris mirigyek, kolangiociták
Fenotípus	CK7- és CK19-pozitív		
	CRP-, N-kadherin-, CD56-pozitív	S100p-, MUC5AC-, MUC6-pozitív	
Genetikai eltérések	IDH1/2, BAP1-, BRCA-mutációk, FGFR2-fúziók	KRAS-, TP53-, HER2-amplifikáció	

vagy kisebb HRD-panellel történhet. Ezen vizsgálatok során a heterozigotáság elvesztését (LOH), a nagyméretű tranzíciókat és a telomerikus allélikus kiegyenlítetlenséget veszik figyelembe. Jelenleg a HRD-score megállapítása nem képezi a mindennapi rutin részét.

A mikroszatellita-instabil (MSI-H/dMMR) esetek előfordulási gyakorisága a hasnyálmirigyrákban körülbelül 0,8%. A legtöbb eset Lynch-szindrómához köthető, bár sporadikus esetek is előfordulnak. MMR-deficiencia esetén immunellenőrzőpont-gátlószer (ICI) kezeléssel csekély túlélési előnyt figyeltek meg. A magas mutációs teher (TMB-H) PDAC-kben az ICI-terápia indikációját képezheti, de a pontos küszöbérték nem ismert [23].

Az *NTRK*-fúziók *KRAS* vad típusú daganatokban, a hasnyálmirigyrákok <1%-ában fordulnak elő. Ezek specifikus inhibitorokkal, pl. larotrektnib vagy entrektinib alkalmazásával célzottan kezelhetők [24].

EPEÚTI TUMOROK (4., 5. táblázat)

A kolangiokarcinómák (CCA) a biliáris hámból kiinduló rosszindulatú daganatok, melyeket az anatómiai elhelyezkedésük alapján intrahepatikus CCA (iCCA), perihiláris CCA (pCCA), valamint disztális CCA (dCCA) csoportokra osztunk. Az extrahepatikus formák a CCA-esetek 70–90%-át képviselik, míg az intrahepatikus formák a 20%-át. A fenti besorolás nemcsak anatómiai, hanem biológiai jelentőségű is, mivel minden CCA-altípus egyedi biológiai és patológiai profillal rendelkezik. Az esetek 90%-a sporadikus. Ismert kockázati tényezők: primer szklerotizáló kolangitisz, hepatolitiázis és a máj krónikus gyulladásos megbetegedési (HBV, HCV szteatohepatitisz, cirrózis) [25]. A kolangiokarcinómák, különösen a kis duktusz típusú intrahepatikus kolangiokarcinómák (iCCA) célozható molekuláris eltéréseket hordoznak, így előrehaladott esetekben a szisztémás kezelésre alkalmas betegekben molekuláris vizsgálatok elvégzése ajánlott. Monogén vizsgálatokkal szemben NGS-vizsgálat javasolt a nagyszámú targetmutáció miatt. A kis duktusz típusú intrahepatikus kolangiokarcinómák molekuláris vizsgálata során 160 génes DNS-vizsgálatot és fúzióspecifikus RNS-panelt végzünk, minden más esetben

általában kisebb panellel végzett NGS-vizsgálat elegendő. A vizsgálat elvégezhető formalinban fixált és paraffinba ágyazott szövettani blokkból, továbbá a DNS-vizsgálatra liquid biopsziás minta is alkalmas lehet.

Jelenleg a génpanelnek tartalmaznia kell az izocitrát-dehidrogenáz 1 (*IDH1*), a humán epidermális növekedési faktor receptor 2 (*HER2*)/neu (*ERBB2*) és a *BRAF* gének kódoló DNS-régióit. Szöveti alapú tesztelés során RNS-szinten a fibroblaszt növekedési faktor receptor 2 (*FGFR2*) és neurotróf tirozin-receptorkináz (*NTRK*) gének fúzióinak termékét érdemes vizsgálni. A fúziók biztos megtalálásához panelalapú módszert kell alkalmazni, amely képes az ismert és ismeretlen fúziós partnerekkel történt fúziós transzkriptumok azonosítására. Ideális esetben ezt párhuzamos DNS-teszteléssel kell kombinálni a törési pontok azonosítása érdekében, amelyek főként az *FGFR2* 17. és 18. exonjaiban fordulnak elő. A DNS- és RNS-alapú NGS-vizsgálatok ideális esetben hibrid-capture vagy rögzített multiplex PCR technológiát kell, hogy alkalmazzanak [26].

A mikroszatellita-instabilitás (MSI/dMMR) meghatározására az MMR-fehérjék immunhisztokémiai kimutatása, PCR-alapú módszerek és NGS egyaránt alkalmazhatóak.

Az *IDH1* és *IDH2* leggyakoribb klinikai jelentőségű mutációi a 132. (R132) és 172. (R172) aminosav-pozíciókban talál-

5. TÁBLÁZAT. Rutin molekuláris vizsgálatok epeúti karcinómákban

Gének	Gyakoriság	Célzott terápia	Vizsgálati módszer
<i>IDH1</i>	iCCA 15%	ivoszidenib	NGS
<i>FGFR2</i>	iCCA 20%	pemigatinib, futibatinib	RNS fúziós panel
<i>ERBB2</i>	eCCA és GBC: 10% és 20%	trasztuzumab	immunhisztokémia, ISH, NGS
<i>BRAF</i> V600E	5%	BRAF-gátlók	monogén vizsgálat, NGS

hatók, és iCCA-betegek körülbelül 10–20%-ában fordulnak elő. Az ivoszidenib egy orálisan szedhető IDH1-enziminhibitor, és eddig az egyetlen célzott szer, amely sikeresen teljesítette a III. fázisú klinikai vizsgálatot CCA esetén. A ClarIDHy tanulmány megmutatta, hogy az ivoszidenib szignifikánsan javította a progressziómentes túlélést (PFS), azoknál a betegeknél, akik progrediáltak az első vonalbeli terápia során, az OS-adatok is statisztikailag szignifikáns javulást mutattak [27]. Ezen adatok alapján az ivoszidenibet az FDA és az EMA is jóváhagyta, és másodvonalon javasolta *IDH1*-mutációkkal rendelkező betegek kezelésére.

II. fázisú klinikai vizsgálatokban dokumentálták a fibroblaszt növekedési faktor receptor (FGFR) inhibitorok klinikai hatékonyságát *FGFR2*-fúzióval és -átrendeződéssel rendelkező CCA-betegek esetében. Az eredményeket figyelembe véve az FDA és az EMA engedélyezte a pemigatinib FGFR-inhibitor *FGFR2*-fúzióval és -átrendeződéssel rendelkező betegek másodvonalonbeli kezelésére [28].

A HER2/neu (*ERBB2*) prediktív biomarkerként elsősorban extrahepatikus kolangiokarcinómákban és epehólyag-adenokarcinómákban alkalmazható (előbbiben előfordulása 5–10%, utóbbiban akár 20% is lehet). Értékeléskor a gyomorban is alkalmazott módszert alkalmazzuk. *BRAF*-mutációk a CCA-s betegek körülbelül 5%-ában azonosíthatók. *BRCA1/2* és *PALB2*-mutációk jelenléte esetén vagy magas HRD-score alapján PARP-inhibitor-terápia javasolható. Az MSI-H/dMMR gyakorisága epeúti tumorokban <5%, de esetükben pembrolizumab alkalmazása megfontolandó, amennyiben más terápiás lehetőségek nem állnak már rendelkezésre. Az *NTRK*-fúziók az epeúti karcinómás esetek <0,1%-ában fordulnak elő, és célozhatók specifikus inhibitorokkal, mint például a larotrekintinib vagy az entrekintinib [29].

GASZTROINTESZTINÁLIS STROMÁLIS TUMOR (GIST)

(6. táblázat)

A gasztrointesztinális stromális tumorok molekuláris vizsgálatával részben alá tudjuk támasztani a szövettani diagnózist, másrészt a metasztatikus esetek és közepes vagy nagyobb rizikójú tumorok célzott terápiára adott választ tudjuk előre jelezni. A GIST-ek körülbelül 85%-ában a *KIT* vagy *PDGFRA* génekben lévő, egymást kizáró aktiváló mutációk vannak. A *KIT*- és *PDGFRA*-mutációk általában jól ismert régiókban csoportosulnak. A GIST-ek 75–80%-a primer mutációt hordoz a *KIT* génben, leggyakrabban a 11., 9., 13. és 17. exonokban. A *KIT*-mutációk többsége a 11. exonban található (~70%), amely a sejten belüli juxtamembrán domént kódolja. A *KIT* exon 9 az extracelluláris ligandumot kötő domént kódolja, mutációja az esetek 12–15%-ában mutatható ki, és vékonybél-lokalizációval, valamint nagyobb malignus potenciállal hozták összefüggésbe. Végül, a 13. és 17. exon a *KIT* ATP-kötő helyét és az aktiváló hurkot kódolja, mutációi primer eltérésként meglehetősen ritkák (<1%). A *KIT* gén másodlagos mutációi a tirozinkináz-inhibitorok által kifejtett szelektív nyomás hatására jelennek meg, és nagy százalékban TKI-kezelés

iránti rezisztenciával járnak. A *KIT* gén másodlagos mutációi az ATP-kötő zsebekben (13. és 14. exon) és az aktiváló hurokban (17. és 18. exon) csoportosulnak.

A *PDGFRA*-mutációk előfordulásának becsült gyakorisága 5–10% között mozog. A *PDGFRA*-mutáns GIST-ek gyomor kiindulásúak és epitelioid morfológiájúak. A mutációk főként a juxtamembrán (0,7%) és a kináz doménekben (6%) találhatóak, amelyeket a 12. és 18. exon kódol. Az esetek 65–75%-ában a 18. exont érintő D842V mutációt azonosítjuk. A 14. exonban található mutációk rendkívül ritkák (0,1%) [30].

KIT/*PDGFRA* vad típusú GIST

Szukcinát-dehidrogenáz-hiányos GIST

Az SDH-proteinkomplex négy alegységből áll: SDHA, SDHB, SDHC és SDHD. Az alegységek bármelyikének elvesztése mutációk vagy epigenetikai csendesítés következtében az egész SDH-komplex instabilitását okozza, ami az SDHB lebomlásához és expressziójának elvesztéséhez vezet. Emiatt az SDHB immunhisztokémiai reakció bármelyik alegység hibája esetén használható az eltérés azonosítására. Összességében, becslések szerint a felnőtt, *KIT*/*PDGFRA* vad típusú GIST-ek több mint 80%-a SDH-hiányos. Klinikailag ezek a daganatok általában a gyomorban fordulnak elő és gyakoribbak gyerekkorban, valamint fiatal felnőttkorban. Az SDH-hiányos GIST-eknek jellegzetes morfológiai jellemzői közé tartozik a multinoduláris megjelenés és a nyirokcso-mó-érintettség. Mikroszkóposan ezek a GIST-ek epitelioid morfológiával, a *KIT* (CD117) erős expressziójával és negatív SDHB immunhisztokémiai reakcióval jellemezhetők. Bár a klinikai lefolyás változatos lehet, a progresszió általában lassú, még disszemináció után is. Az SDH-deficiens esetek egy része csírasejtes *SDH*-mutációt hordoz, ezért genetikai tanácsadás ebben a betegcsoportban ajánlott [31].

6. TÁBLÁZAT. GIST: mutációk és tirozinkináz-inhibitor terápia iránti érzékenység

Gén	Exon/mutáció	1. vonalbeli terápia
<i>KIT</i>	exon 11	imatinib 400 mg
	exon 9	imatinib 800 mg
<i>PDGFRA</i>	exon 18 D842V mutáció	avapritinib 300 mg
	nem exon 18 D842V mutáció	imatinib 400 mg
SDH-deficiens		szunitinib 50 mg
<i>BRAF</i>	V600E	BRAF-gátlószer
<i>NTRK</i> - génátrendeződés		NTRK-gátlószer
minden más vad típusú GIST		szunitinib 50 mg

Szukcinát-dehidrogenáz-kompetens GIST

A *KIT/PDGFR*A vad típusú GIST-eknek kevesebb mint 20%-a SDH-kompetens. Ez a daganatcsoport a MAPK-út vonal aktiválásával jellemezhető: például *NF1*-, *BRAF* V600E mutációkkal vagy *NTRK*-génátrendeződésekkel. Az *NF1*- és *BRAF*-mutáns GIST-ek szinte kizárólag a vékonybél mentén fordulnak elő. Míg a *BRAF*-mutáns GIST-ek izolált daganatok, az *NF1*-mutáns GIST a leggyakrabban multifokális vagy multinoduláris betegséggént jelentkezik. *NF1*-mutáns tumorokban örökletes NF1 szindrómát (neurofibromatózis) ki kell zárni. Végül nagyon ritka esetekben *NTRK3*-fúzió azonosítható, ezekben az esetekben is alkalmazhatók a korábban már többször említett TRK-gátlók [32].

A rutinszerű Sanger-szekvenálás érzékenysége csupán 20–25%. A Sanger-szekvenálással *KIT/PDGFR*A vad típusú GIST-ek 40–50%-a NGS-vizsgálattal *KIT/PDGFR*A mutánsnak bizonyult, csupán a vizsgálat nagyobb érzékenysége (1–5%) miatt.

Összefoglalva: molekuláris vizsgálat közepes és nagyobb rizikójú GIST tumoroknál és metasztatikus esetekben szükséges, a teljes *KIT* és *PDGFR*A géneket tartalmazó NGS-panellel. Ezek a panelek sokszor egyéb diagnosztikus értékű mutációkat is tartalmaznak (*BRAF*, *NF-1*). Az SDH-deficiens GIST vizsgálható immunhisztokémiai reakcióval vagy nagyobb NGS-panellel. Az egyes mutációkhoz eltérő tirozinkináz-inhibitor érzékenység tartozik [33].

IRODALOM

- World Health Organization. Digestive System Tumours: WHO Classification of Tumours. 5th ed., International Agency for Research on Cancer, 2019
- Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al: The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* 21:1350–1356, 2015
- Argilés G, Tabernero J, Labianca R, et al: Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 31:1291–1305, 2020
- Chen W, Frankel WL: A practical guide to biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. *Mod Pathol* 32(Suppl 1):1–15, 2019
- Loria A, Ammann AM, Olowokure OO, et al: Systematic review of neoadjuvant immunotherapy for mismatch repair deficient locally advanced colon cancer: an emerging strategy. *Dis Colon Rectum* 67:762–771, 2024
- Shin AE, Giaccotti FG, Rustgi AK: Metastatic colorectal cancer: mechanisms and emerging therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 44:222–236, 2023
- Yaeger R, Weiss J, Pelster MS, et al: Adagrasib with or without cetuximab in colorectal cancer with mutated KRAS G12C. *N Engl J Med* 388:44–54, 2023
- Ratti M, Grizzi G, Passalacqua R, et al: NTRK fusions in colorectal cancer: clinical meaning and future perspective. *Expert Opin Ther Targets* 25:677–683, 2021
- Chia NY, Tan P: Molecular classification of gastric cancer. *Ann Oncol* 27:763–769, 2016
- Röcken C: Predictive biomarkers in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 149:467–481, 2023
- Pietrantonio F, Miceli R, Raimondi A, et al: Individual patient data meta-analysis of the value of microsatellite instability as a biomarker in gastric cancer. *J Clin Oncol* 37:3392–3400, 2019
- Bartley AN, Washington MK, Ventura CB, et al: HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline from the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *Arch Pathol Lab Med* 140:1345–1363, 2016
- Ajani JA, D'Amico TA, Bentrem DJ, et al: Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 20:167–192, 2022
- Mathias-Machado MC, de Jesus VHF, Jácome A, et al: Claudin 18.2 as a new biomarker in gastric cancer-what should we know? *Cancers (Basel)* 16:679, 2024
- Shah MA, Shitara K, Ajani JA, et al: Zolbetuximab plus CAPOX in CLDN18.2-positive gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: the randomized, phase 3 GLOW trial. *Nat Med* 29:2133–2141, 2023
- Wainberg ZA, Enzinger PC, Kang YK, et al: Bemarituzumab in patients with FGFR2b-selected gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FIGHT): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol* 23:1430–1440, 2022
- Sato Y, Okamoto K, Kawano Y, et al: Novel biomarkers of gastric cancer: current research and future perspectives. *J Clin Med* 12:4646, 2023
- Stickler S, Rath B, Hamilton G: Targeting KRAS in pancreatic cancer. *Oncol Res* 32:799–805, 2024
- Aung KL, Fischer SE, Denroche RE, et al: Genomics-driven precision medicine for advanced pancreatic cancer: early results from the COMPASS Trial. *Clin Cancer Res* 24:1344–1354, 2018
- Golan T, Hammel P: Management of BRCA mutation carriers with pancreatic adenocarcinoma. *J Natl Compr Canc Netw* 19:469–473, 2021
- Conroy T, Pfeiffer P, Vilgrain V, et al: Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 34:987–1002, 2023
- Wattenberg MM, Reiss KA: Determinants of homologous recombination deficiency in pancreatic cancer. *Cancers (Basel)* 13:4716, 2021
- Brozos-Vázquez E, Toledano-Fonseca M, Costa-Fraga N, et al: Pancreatic cancer biomarkers: A pathway to advance in personalized treatment selection. *Cancer Treat Rev* 125:102719, 2024
- Zhen DB, Safyan RA, Konick EQ, et al: The role of molecular testing in pancreatic cancer. *Therap Adv Gastroenterol* 16:17562848231171456, 2023
- Guedj N: Pathology of cholangiocarcinomas. *Curr Oncol* 30:370–380, 2022
- Merath K, Tiwari A, Parikh AA, et al: Molecular targeted and systemic therapy for intrahepatic cholangiocarcinoma: a multi-disciplinary approach. *Future Oncol* 19:2607–2621, 2023
- Zhu AX, Macarulla T, Javle MM, et al: Final overall survival efficacy results of ivosidenib for patients with advanced cholangiocarcinoma with IDH1 mutation: the phase 3 randomized clinical ClarIDHy trial. *JAMA Oncol* 7:1669–1677, 2021
- Frampton JE: Pemigatinib: a review in advanced cholangiocarcinoma. *Target Oncol* 19:107–114, 2024
- Li Y, Yu J, Zhang Y, Peng C, et al: Advances in targeted therapy of cholangiocarcinoma. *Ann Med* 56:2310196, 2024
- Martín-Broto J, Rubio L, Alemany R, et al: Clinical implications of KIT and PDGFR genotyping in GIST. *Clin Transl Oncol* 12:670–676, 2010
- Ibrahim A, Chopra S: Succinate dehydrogenase-deficient gastrointestinal stromal tumors. *Arch Pathol Lab Med* 144:655–660, 2020
- Wada R, Arai H, Kure S, et al: „Wild type” GIST: Clinicopathological features and clinical practice. *Pathol Int* 66:431–437, 2016
- Serrano C, Martín-Broto J, Asencio-Pascual JM, et al: 2023 GEIS guidelines for gastrointestinal stromal tumors. *Ther Adv Med Oncol* 15:17588359231192388, 2023