

## Vloga biomarkerjev v sistemskem zdravljenju melanoma

### Biomarkers in the systemic treatment of melanoma

Tanja Mesti

#### Povzetek

Nove vrste zdravil za sistemsko zdravljenje malignega melanoma in njihova uvedba v zadnjih 10 letih je radikalno izboljšala rezultate pri bolnikih z melanomom. Tarčna terapija z malimi molekulami tirozin kinaznih inhibitorjev in imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk v obliki monoklonskih protiteles so privedli do podaljšanja preživetja bolnikom z razsejanim melanomom od manj kot eno leto na vsaj štirideset mesecev. Več kot polovica kožnih melanomov ima mutacijo BRAFV600 in skoraj vsi bolniki, ki prejemajo tarčno terapijo z BRAF zaviralci, bodo imeli določen odgovor. Vendar pa je trajanje odziva s temi zdravili negotovo zaradi pridobljene odpornosti, kar pomeni, da le malo bolnikov odgovorijo dolgotrajno. Večina bolnikov z metastatskim melanomom je potencialno primernih za zaviralce imunskih kontrolnih točk, ne glede na status BRAF gena. V času personaliziranega sistema zdravljenja raka biomarkerji so neizogibno orodje s katerim lahko napovemo odgovor na posamezno terapijo.

Ta pregled se osredotoča na do sedaj opažene možnosti uporabe biomarkerjev pri sistemskem zdravljenju kožnega melanoma, vključno s stanjem BRAF gena.

**Ključne besede:** maligni melanom, biomarkerji, imunoterapija, zaviralci kontrolnih točk, BRAFV600 mutacija, BRAF/MEK zaviralci, NRAS mutacija, cKIT, NTRK fuzije, NTRK zaviralci

#### Uvod

Področje sistema zdravljenja malignega melanoma je doživelo revolucionarno spremembo z uvedbo tarčnih zdravil in imunoterapije (IT) kot standardne možnosti zdravljenja. V zadnjem desetletju je zdravljenje metastatskega melanoma doživelo radikalno preobrazbo, z dvema novima razredoma zdravil proti raku, ki sta vstopila v rutinsko klinično prakso, kar je potrojilo skupno preživetje bolnikov, katerih pričakovana življenjska doba je bila prej omejena na manj kot eno leto.

Tarčna zdravila, BRAF in MEK zaviralci, so izrazito izboljšala stopnjo preživetja brez napredovanja bolezni pri neresektabilnem BRAF mutiranem metastatskem melanomu. Obe zdravili zavirata MAPK pot in se običajno uporabljata v kombinaciji, ker se odpornost proti monoterapiji z zaviralci BRAF običajno razvije v 6-8 mesecih. Zaviralci MEK v kombinirani terapiji pripomorejo k premagovanju opisane rezistence, kar dodatno podaljša celotno preživetje. Na onkološkem Inštitutu Ljubljana na voljo imamo kombinacijo naslednjih BRAF/MEK zaviralcev pri zdravljenju melanoma: Dabrafenib/Trametinib in Vemurafenib/Kobimetinib.

Imunoterapija deluje tako, da modulira ali manipulira z imunskim sistemom in posledično aktivira imunski odziv na rakaste celice. Obseg zdravljenja z IT je precej širok in zajema zdravljenje z onkolitičnimi virusi, zdravljenje s T-celicami s himernimi antigenskimi receptorji (CAR-T), cepiva proti raku, posvojitveno zdravljenje s T-celicami in predvsem še najbolj odmevno zdravljenje z zaviralci imunskih kontrolnih točk (ICI). Odobreni ICI, tako imenovana "prva generacija", vključujejo monoklonska protitelesa, usmerjena proti PD-1 (pembrolizumab, nivolumab, cemiplimab), proti PD-L1 (atezolizumab, avelumab in durvalumab) in proti proteinu citotoksični T-limfocitni antigen 4, CTLA-4 (ipilimumab). ICI so pridobili veliko pozornost zaradi svojih impresivnih rezultatov zdravljenja pri številnih vrstah tumorjev, še posebej pri malignem melanomu, za katerega se je izkazalo da je zelo imunogen in posledično še bolj odziven na tovrstno zdravljenje. Na Onkološkem Inštitutu Ljubljana trenutno pri zdravljenju malignega melanoma imamo na voljo anti- PD1 zaviralce pembrolizumab in nivolumab, ter kombinacija nivolumaba s anti- CTLA4 zaviralcem ipilimumabom.

BRAF/MEK zaviralce ali anti- PD1 zaviralce uporabljamo tudi pri dopolnilnem postoperativnem zdravljenju lokoregionalno napredovalega malignega melanoma, na podlagi dokazov, da tovrstna terapija prepolovi stopnjo ponovitve.

Biomarker definiramo kot "kakršen koli merljiv diagnostični indikator, ki se uporablja za oceno tveganja ali prisotnosti bolezni". Biomarkerje lahko uporabljamo pri diagnozi ali pri samem zdravljenju, imajo napovedni in/ali prognostični pomen. Melanom lahko vznikne iz melanocitov kože in sluznic, tako da razlikujemo več entitet melanoma, ki kot kažejo molekularne analize imajo različne molekularne lastnosti in prav zaradi tega nimajo enakega odgovora na zdravljenje. Najbolj pogostejši je kožni melanom, pri kateremu v več kot polovici primerov je prisotna BRAF mutacija. Pri sluzničnem melanomu je bolj vodilna NRAS mutacija (15%), pri akralnem melanomu je v 15% prisotna še cKIT mutacija. Sluznični melanom ima popolnoma drugačne molekularne lastnosti. Namreč najbolj pogostejše mutacije so v GNAQ in GNA11 mutacije.

V nadaljevanju članka bodo opisane možnosti uporabe oziroma vloga in pomen pri sistemskem zdravljenju kožnega melanoma.

## **Prstni odtis kožnega melanoma**

TCGA analiza (The Cancer Genome Atlas Network) je na 333 primarnih in/ali razsejanih kožnih melanomov pri 331 bolnikov pokazala da je ena od glavnih poti deregulacije pri razvoju melanoma deregulacija MAPK/ERK celične poti in da obstajajo štiri molekularnih podtipov, glede na frekvenco izražanja mutacij. V več kot polovici (52%) je prisotna BRAF mutacija, ki ima napovedni pomen za uporabo MAPK zaviralcev (BRAF/MEK). Druga entiteta so bolniki pri katerih je v ospredju RAS mutacija in pri tej skupini so najbolj smiselni MEK zaviralci. Pri tretji entiteti gre za starejše bolnike z večjim bremenom mutacij, v ospredju dominira NF1 mutacija, občutljiva na MEK zaviralce. V primeru, BRAF in NRAS in NF1 odsotnosti mutacij, govorimo o četrti entiteti, kjer bi bilo smiselno zdraviti s PI3K/mTOR zaviralci glede na to, da je PI3K/AKT glavna pot celične deregulacije.

## **BRAF mutacija**

Mutacija v BRAF genu je napovedni dejavnik za odgovor na zdravljenje z BRAF/MEK zaviralci, kar je za pričakovati pri polovici populacije z malignim melanomom. Do danes je bilo opisanih približno 300 mutacij BRAF, najpogostejša je V600E (valin v glutaminsko kislino; 70–88 %). Mutacijskega BRAF statusa ni mogoče uporabiti kot diagnostični ali prognostični biomarker, saj so mutacije prisotne tudi pri benignih nevusih, in čeprav je pri melanomih z mutacijo BRAF večja verjetnost, da bodo razvili regionalne metastaze, ni dokazov o kakršnem koli vplivu na splošno umrljivost. Tarčna sistemska terapija z BRAF/MEK zaviralci so pokazale pomembno korist pri dopolnilnem zdravljenju s 53 % zmanjšanjem tveganja za ponovitev bolezni v primerjavi s placebom. Na podlagi teh rezultatov bolnike z reseciranim melanomom z visokim tveganjem (stopnja III) zdravimo eno leto z BRAF/MEK zaviralci. Pri bolnikih z napredovalim ali razsejanim melanomom uporaba BRAF/MEK zaviralcev je podaljšala preživetje od približno po leta, pridobljene s kemoterapijo, kot standardno zdravljenje pred obdobjem tarčne terapije, na več kot 30 mesecev.

## **NRAS mutacija**

Pri 15 - 20% kožnih melanomov najdemo NRAS mutacijo. Melanomi z NRAS mutacijo bo bolj agresivni in posledično imajo slabšo prognozo. NRAS mutacije se pojavljajo predvsem na položaju 61 in vključujejo spremembo aminokislin iz glutamina v arginin, lizin ali levcin. Dvajset procentov vseh NRAS mutacij se zgodi na kodonih 12 ali 13, kar povzroči spremembo aminokislina glicin za asparaginsko kislino. NRAS mutirani melanom se razlikujejo od BRAF mutiranih s kliničnega vidika. Bolniki so običajno starejši (>55 let) s predhodno izpostavljenostjo UV žarkom, lezije imajo nagnjenost k zgornjim okončinam in so debelejši z večjo globino ter zasevajo visceralno in v CZS. Zaenkrat tarčne terapije za to entiteto ni, iz retrospektivnih študij podatki kažejo odzivnost na imunoterapijo, tako da so trenutno na podlagi le teh PD1 zaviralci kontrolnih točk terapija prve izbire. Sicer je to zelo aktualno področje, kjer potekajo študije tudi kombinacije MEK zaviralcev z PI3K-AKT-mTOR zaviralcev, glede na dejstvo da je MEK zaviralec binimetinib podaljšal čas do progressa bolezni, vendar ne celokupno preživetje. Rezultate nestrpno pričakujemo.

## **cKIT mutacije**

Pri melanomu, ki se razvije na koži kronično izpostavljeni soncu, v nekaj procentih najdemo cKIT mutacije. Namreč, v 3 % vseh melanomov, c-KIT mutacije najdemo pri akralnem in sluzničnem melanomu ter melanomu, ki se razvije na koži kronično izpostavljeni soncu. Približno 70 % KIT mutacij pri melanomu je lokaliziranih na eksonu 11, z najpogostejšo mutacijo lizina v prolin na kodonu 576 (L576P), in na eksonu 13, z najpogostejšo mutacijo metionina v glutaminsko kislino na kodonu 642 (K642E). Obe mutaciji vodita do aktivacije aktivnosti tirozin kinaze c-KIT in kasnejše indukcije poti MAPK in PI3K/AKT. KIT mutacije v skoraj se nikoli ne pojavijo v povezavi z mutacijami BRAF (V600E) in NRAS (G12/Q61). Izkušnja s GIST (gastrostomalnimi tumorji), kjer je cKIT mutacija prisotna v 70%, kaže da je uporaba cKIT zaviralca imatiniba učinkovita, vendar v primeru zdravljenja cKIT mutiranega melanoma je predvsem pomembna ne le prisotnost mutacije, ampak ponovljivost oz rekurentnost teh mutacij, kar zagotovi do 50% odgovora na tovrstno zdravljenje.

## **NTRK fuzije**

NTRK fuzije genov – NTRK 1,2,3 pri solidnih tumorjih kažejo dobro odzivnost na zdravljenje z NTRK zaviralci – larotrektnib in entrektinib. Gre za redke translokacije, pri melanomu prisotnih v okoli 0.5%, vendar izjemnega napovednega pomena za to podskupino melanomov, saj je bil dosežen objektivni odgovor pri 75% zdravljenih bolnikov.

## **Zaključek**

Trenutno sistemsko zdravljenje malignega melanoma, bodisi dopolnilnega ali razsejanega temelji na molekularnem statusu BRAF gena, ki nam služi kot napovedni biomarker pri izbiri sistema zdravljenja. Glede na to, da je maligni melanom v osnovi visoko imunogen tumor, imunoterapija oz zdravljenje z zaviralci imunih kontrolnih točk prihaja v poštev, ne glede na stanje BRAF statusa, vendar pri razsejanem melanomu na imunoterapijo odgovori okoli tretjina zdravljenih. Dokazanih napovednih dejavnikov še ni. Kot je iz tega članka razvidno, obstajajo podtipi kožnega melanoma, kjer so mutacije in fuzije biomarker za tarčno vodeno terapijo, kot je cKIT zaviralec Imatinib pri cKIT mutiranih melanomih in NTRK zaviralci larotrektnib in entrektinib pri melanomih z NTRK fuzijami. Ključna naslednja faza raziskav je razširitev izbire zdravljenja z identifikacijo biomarkerjev, ki lahko zanesljivo napovejo tako odziv na terapijo kot verjetnost ponovitve bolezni.

## **Literatura**

1. Simeone E, Grimaldi AM, Festino L, Vanella V, Palla M, Ascierto PA. Combination Treatment of Patients with Braf-Mutant Melanoma: A New Standard of Care. *BioDrugs*. 2017;31(1):51-61.
2. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell* 2015;27:450–61
3. Testori AAE, Chiellino S, van Akkooi ACJ. Adjuvant Therapy for Melanoma: Past, Current, and Future Developments. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1994. Published 2020 Jul 21. doi:10.3390/cancers12071994  
Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015;161(7):1681-1696. doi:10.1016/j.cell.2015.05.044
4. Tanda ET, Vanni I, Boutros A, Andreotti V, Bruno W, Ghiorzo P, Spagnolo F. Current State of Target Treatment in BRAF Mutated Melanoma. *Front Mol Biosci*. 2020 Jul 14;7:154. doi:10.3389/fmolb.2020.00154. PMID: 32760738; PMCID: PMC7371970.

- 
5. Garcia-Alvarez A, Ortiz C, Muñoz-Couselo E. Current Perspectives and Novel Strategies of *NRAS*-Mutant Melanoma. *Onco Targets Ther.* 2021 Jun 9;14:3709-3719. doi: 10.2147/OTT.S278095. PMID: 34135599; PMCID: PMC8202735.
  6. Pham DDM, Guhan S, Tsao H. KIT and Melanoma: Biological Insights and Clinical Implications. *Yonsei Med J.* 2020;61(7):562-571. doi:10.3349/ymj.2020.61.7.562
  7. Lezcano C, Shoushtari AN, Ariyan C, Hollmann TJ, Busam KJ. Primary and Metastatic Melanoma With NTRK Fusions. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(8):1052-1058. doi:10.1097/PAS.0000000000001070