



Zbigniew Gaciong

Jacek Jassem

Artur Kowalik

Krzysztof Krajewski-Siuda

Paweł Krawczyk

Krzysztof Łach

MEDYCYNĄ PERSONALIZOWANĄ

*właściwy lek
dla właściwego chorego
we właściwym czasie*

MEDYCYNĄ PERSONALIZOWANĄ

ISBN 978-83-944863-1-0

© Copyright by Instytut Ochrony Zdrowia w Polsce. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Opracowanie jest chronione prawami autorskimi. Żadna część opracowania nie może być kopiowana bądź wykorzystywana przez jakąkolwiek osobę trzecią bez uzyskania pisemnej zgody Instytutu Ochrony Zdrowia.

Instytut Ochrony Zdrowia nie ponosi odpowiedzialności za jakiegokolwiek ewentualne decyzje i ich skutki, jakie zostaną podjęte na podstawie niniejszego opracowania.



Instytut Ochrony Zdrowia
ul. Filtrowa 70 lok. 50
02-057 Warszawa
e-mail: biuro@ioz.org.pl
www.ioz.org.pl

Redakcja językowa:
lek. Tomasz Kobosz

Korekta:
Bożena Sigismund, Janusz Sigismund

Opracowanie graficzne, dtp:
Ewa Przytuła

**Zbigniew Gaciong
Jacek Jassem
Artur Kowalik
Krzysztof Krajewski-Siuda
Paweł Krawczyk
Krzysztof Łach**

MEDYCYNĄ

PERSONALIZOWANĄ

Warszawa 2016



*właściwy lek
dla właściwego chorego
we właściwym czasie*

Spis treści

Wstęp	/ 11
--------------	-------------

Rozdział 1

Medycyna personalizowana: przeszłość i przyszłość, nadzieje i zagrożenia

Zbigniew Gaciong	/ 15
------------------	-------------

Rozdział 2

Teranostyka – połączenie terapii i diagnostyki

Artur Kowalik	/ 27
---------------	-------------

Rozdział 3

Diagnostyka genetyczna niedziedzicznych chorób nowotworowych – prawa pacjenta i obowiązki lekarza

Paweł Krawczyk	/ 59
----------------	-------------

Rozdział 4

Zastosowanie medycyny personalizowanej w onkologii: stan obecny i perspektywy

Jacek Jassem	/ 81
--------------	-------------

Rozdział 5

Zdrowie publiczne a medycyna personalizowana

Krzysztof Krajewski-Siuda, Krzysztof Łach	/ 97
---	-------------

Wstęp

Medycyna personalizowana (ang. *personalized healthcare*, *personalized medicine*) to koncepcja, która opiera się na zrozumieniu różnic między pacjentami chorującymi na tę samą chorobę i na jednoczesnym poznawaniu złożoności chorób. Dzięki tej wiedzy możliwe jest dobieranie odpowiednich terapii do konkretnych grup pacjentów. Medycyna personalizowana pozwala przewidzieć, czy określona terapia okaże się skuteczna dla danego pacjenta. Podstawą medycyny personalizowanej są badania nad ludzkim genomem i wykorzystanie wiedzy z zakresu genetyki, genomiki i proteomiki.

Medycyna personalizowana oznacza też ścisłe współdziałanie diagnostyki i terapii, ponieważ to właśnie precyzyjne metody diagnostyczne pomagają ustalić różnice między chorującymi na tę samą chorobę pacjentami, a następnie dopasowywać leczenie do konkretnych grup chorych. Wyrazem tego jest choćby wprowadzenie do medycyny nowego terminu „teranostyka”, który jest połączeniem słów „terapia” i „diagnostyka”.

Już obecnie zasady medycyny personalizowanej znajdują praktyczne zastosowanie w wyborze optymalnej terapii raka piersi, płuca czy czerniaka. Zastosowanie wiedzy o ludzkim genomie i wysokonakładowego genotypowania pozwala na wykrycie indywidualnych różnic pomiędzy poszczególnymi postaciami choroby i wybór skutecznej, celowanej terapii.

Dalszy postęp badań zwiększy grupę chorych, którzy odniosą korzyści z dobieranej do ich indywidualnej charakterystyki terapii. Dowodem zrozumienia znaczenia medycyny personalizowanej jest uruchomienie w wielu krajach inicjatyw, które promują i finansują badania w tej dziedzinie.

prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gaciong
prezes Polskiego Towarzystwa Medycyny Personalizowanej



Rozdział 1

Medycyna personalizowana: przeszłość i przyszłość, nadzieje i zagrożenia

prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gaciong

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Nadciśnienia Tętniczego i Angiologii,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Współczesna praktyka medyczna posługuje się zasadami medycyny opartej na faktach (ang. *evidence-based medicine*, EBM), która za podstawę do podejmowania decyzji uważa wyniki dużych, kontrolowanych badań klinicznych. Bez wątplenia przyjęcie zasad EBM, gdzie wnioski z badań przekładają się na zestawy konkretnych zaleceń, ułatwia postępowanie lekarzowi praktykowi. Można się nawet spotkać z opinią, że wprowadzenie do medycyny reguły: „badania kliniczne – wytyczne – edukacja” ma podobne znaczenie jak wynalazek stetoskopu w 1816 r. czy elektrokardiografu w 1902 roku. Dzięki oparciu się na zasadach EBM, medycyna kliniczna przestała być obszarem spekulacji, indywidualnych szkół i poglądów, a stała się prawdziwą nauką ścisłą, która oferuje chorym najlepsze, sprawdzone metody, wypracowane na podstawie racjonalnych przesłanek.

Definicja medycyny personalizowanej

Zastosowanie metod analizy genetycznej lub molekularnej w celu optymalizacji terapii, przyspieszenia odkrycia i wprowadzenia do praktyki nowych produktów oraz pomocy w ocenie predyspozycji do określonej choroby czy stanu.

1.1

Wady podejścia opartego na EBM

Za szczególnie znaczące dla praktyki uważa się te badania, które obejmują liczne grupy chorych (ang. *megatrials*) – ich wyniki mogą na lata ukształtować zasady postępowania wobec pacjentów ze zdefiniowanym problemem klinicznym. Włączenie do badania dużej liczby chorych, która w niektórych próbach klinicznych sięga nawet 44 tys. osób (ALLHAT) przynosi szereg korzyści. Po pierwsze, liczna grupa badana zwiększa szansę uzyskania „statystycznie znaczącej” różnicy pomiędzy efektami testowanych metod postępowania. Po drugie, szerokie kryteria włączenia chorych do próby uzasadniają późniejsze liczne wskazania dla stosowania danej terapii, na czym szczególnie zależy sponsorom badań.

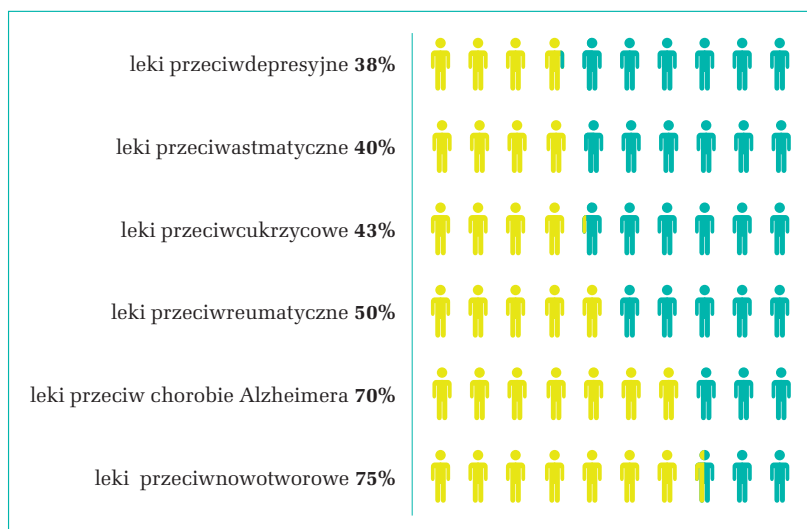
Jeśli jednak dla osiągnięcia zauważalnego efektu terapii konieczne jest włączenie do obserwacji ogromnej liczby chorych, powstaje wątpliwość, dlaczego podobnego wyniku nie udaje się osiągnąć w mniejszej grupie? Jednym z potencjalnych powodów może być „rozcieńczenie” wyniku przez pacjentów, którzy brali udział w badaniu, lecz nie odnieśli korzyści z terapii. Zasady EBM zalecają metody postępowania, które okazały się „statystycznie” lepsze. Wiadomo jednak, że pacjenci z tą samą chorobą różnią się odpowiedzią na zastosowaną terapię. Także ryzyko wystąpienia działań niepożąda-

nych stosowanych leków bywa różne. Pomimo „średnio” pozytywnego wyniku, w grupie chorych włączonych do badania znajdują się także osoby bez korzystnych efektów zastosowanej terapii czy pacjenci, u których wystąpiły groźne powikłania.

Bez wątpienia każdy lekarz chciałby wiedzieć, który z jego pacjentów odniesie szczególne korzyści z proponowanej terapii. Oczywiście, wyniki kontrolowanych badań klinicznych mogą być analizowane w odniesieniu do wybranych podgrup pacjentów różniących się wiekiem, płcią, charakterystyką kliniczną itp. Jednak poszukiwanie subpopulacji o lepszej (lub gorszej) odpowiedzi na stosowaną terapię oparte na retrospektywnej ocenie danych niesie ze sobą niebezpieczeństwo znalezienia przypadkowych „statystycznych” związków, bez znaczenia klinicznego.

Stosowanym do tej pory rozwiązaniem jest włączenie do prób klinicznych względnie homogennych grup chorych o ściśle zdefiniowanych parametrach. Zwykle wybór populacji badanej wykorzystuje wcześniejsze dane z obserwacji epidemiologicznych, które zidentyfikowały potencjalne czynniki ryzyka chorób. Do klasycznych przykładów należą badania z lekami obniżającymi stężenie cholesterolu we krwi (statynami), które najpierw prowadzono wyłącznie u pacjentów z hiperlipidemią. Obecnie wiemy jednak, że leki te przynoszą korzyści w grupach chorych, którzy nie spełniają klasycznych kryteriów hiperlipidemii.

Z oczywistych powodów nie udaje się opracować zasad postępowania w każdej chorobie, opierając się na zasadach EBM. Wiele chorób dotyczy niewielkich populacji pacjentów, co utrudnia prowadzenie badań klinicznych pozwalających na porównanie we właściwy sposób różnych metod terapii. Niejednokrotnie trudno jest opracować protokół badawczy zapewniający absolutny obiektywizm przez zastosowanie tzw. podwójnej ślepej próby. Dotyczy to porównania różnych metod leczenia zabiegowego czy chorób, gdzie prowadzenie terapii zależy od określonego parametru. Przykładowo, taka sytuacja dotyczy badań nad lekami przeciwrzeplowymi, w których

Rycina 1.1 Odsetek chorych, u których określone leki nie przynoszą korzyści

Źródło: Spear, B.B., Heath-Chiozzi M., & Huff J. (2001), *Clinical application of pharmacogenetics*, „Trends in Molecular Medicine” 7(5), 201-204.

dawka leku zależy od stopnia zahamowania aktywności układu krzepnięcia. Podobnie trudno zaproponować badania z „podwójną ślepą próbą” porównujące odmienne metody leczenia chirurgicznego, przykładowo – metodą klasyczną i laparoskopową.

Często wyniki uzyskane w badaniach klinicznych w niewielkim stopniu odnoszą się do powszechnej praktyki klinicznej. Na przykład w badaniach dotyczących skuteczności terapii hipotensyjnej w wieku podeszłym kryteria włączenia spełniała jedynie niewielka grupa osób starszych z nadciśnieniem tętniczym. W jednym z nich (SHEP) jedynie 1% pacjentów poddanych wstępnej ocenie ostatecznie został zakwalifikowany do udziału w badaniu. Z innej analizy, przeprowadzonej przez zespół geriatrów Collegium Medicum UJ w Krakowie, wynika, że 70% pacjentów w wieku podeszłym, którzy znajdują się pod opieką lekarzy rodzinnych, nie kwalifikuje się do żadnego badania klinicznego.

1.2

Historia medycyny personalizowanej

Z badań zgodnych z zasadami EBM wiemy, że większość leków jest skuteczna jedynie u 40–60% pacjentów, a około 15% chorych doświadcza działań niepożądanych leków. Oznacza to, że „średni” pacjent odnosi korzyści, ale w dużej grupie chorych znajdują się osoby, które nie zyskują na – niejednokrotnie kosztownej – terapii lub wręcz są narażone na powikłania.

Zszacuje się, że w USA ponad 100 tys. zgonów można wiązać z działaniami niepożądanymi leków. Spośród powikłań polekowych, około 10–15% ma charakter tzw. reakcji typu B, która nie zależy od podanej dawki i zwykle nie udaje się wykryć czynnika predysponującego. W wielu przypadkach u podłoża działań niepożądanych tego typu leży odmienny metabolizm leku uwarunkowany genetycznie.

Spośród 27 leków często wywołujących działania niepożądane, 59% jest metabolizowane przez enzymy, których aktywność jest uwarunkowana genetycznie. Już obecnie w niektórych ośrodkach na świecie oznacza się genotyp głównych izoform enzymu CYP450 przy prowadzeniu terapii kłopidogrelem – podstawowym lekiem przeciwplatekcyjnym dla chorych z przebyłym ostrym zespołem wieńcowym. Ciężkie reakcje skórne występują znacznie częściej u nosicieli niektórych alleli HLA, co już znajduje praktyczne zastosowanie u osób kwalifikowanych do terapii lekami anty-HIV.

Zasada medycyny personalizowanej, czyli „właściwy lek dla właściwego chorego we właściwym czasie” praktykowana jest niemal od zarania dziejów. Już Hipokrates (V wiek p.n.e.), opierając się na teorii Empedoklesa, zalecał terapię w zależności od zaburzeń czterech podstawowych humorów organizmu. Historycznie, pierwszym przykładem zastosowania personalizowanego podejścia do terapii jest transfuzjologia. Warto podkreślić, że twórcami teorii dziedziczenia grup krwi, która stała się podstawą właściwego

dobierania dawcy i biorcy krwi, byli polscy badacze – Anna i Ludwik Hirszfeldowie.

Współcześnie decyzję o rozpoczęciu leczenia uzależniamy od wartości ciśnienia tętniczego, stężenia cholesterolu, poziomu PSA, liczby kopii wirusa we krwi i wielu innych parametrów. Zwykle parametry te wskazują na wielkość ryzyka lub stopień zaawansowania schorzenia, lecz nie informują o tym, jak chory zareaguje na zaproponowaną terapię. W niektórych specjalnościach medycznych, jak w onkologii, analiza zróżnicowania nowotworów oparta na stopniowaniu klinicznym czy charakterystyce fenotypowej stała się rutynową metodą dla wyboru najbardziej skutecznej terapii.

Podstawowym źródłem zmienności wewnątrz naszego gatunku są różnice w obrębie genomu, najczęściej związane z polimorfizmem pojedynczych nukleotydów czy zmienną liczbą kopii genów. Zakończenie sekwencjonowania ludzkiego DNA rozpoczęło erę poszukiwania związku pomiędzy indywidualnymi różnicami w genomie a odpowiedzią na wybrane leki. Dzięki metodom wysoko wydajnego sekwencjonowania DNA na wielką skalę i zastosowaniu mikromacierzy DNA zawierających nawet 2 miliony sond genetycznych, w ostatnich latach obserwujemy znaczące przyspieszenie badań farmakogenetycznych.

Praktycznie w każdej dziedzinie medycyny poszukuje się dziś wariantów genów, które wiążą się z typem odpowiedzi na terapię. Osiągnięcia farmakogenomiki, czyli zależności efektu terapii od czynników genetycznych, po raz pierwszy zastosowano w praktyce w onkologii. Jednak w większości chorób – zwłaszcza tych, które dominują wśród przyczyn zgonów, jak schorzenia układu krążenia – postępowanie z konkretnym pacjentem pozostaje w niewielkim stopniu „personalizowane”. Tymczasem od dawna wiadomo, że czynniki genetyczne warunkują efekty terapii tych chorób. Przykładowo, osoby rasy czarnej z niewydolnością serca mają gorsze wyniki terapii beta-adrenolitykami i inhibitorami konwertazy angiotensyny niż przedstawiciel rasy białej. Również Afroamerykanie

wykazują mniejszą redukcję ciśnienia tętniczego w przebiegu terapii lekami blokującymi układ renina–angiotensyna.

Historycznie, naukowcem, którego można uznać za pioniera medycyny personalizowanej jest amerykański badacz układu renina–angiotensyna – John Laragh. Wykazał on, że odpowiedź na wybrane leki hipotensyjne zależy od wyjściowej aktywności układu renina–angiotensyna. Koncepcja prof. Laragha została niedawno potwierdzona w badaniu przeprowadzonym u pacjentów z opornym nadciśnieniem tętniczym (PATHWAY-2), w którym skuteczność hipotensyjna leków działających przez układ renina–angiotensyna zależała od wyjściowej aktywności reninowej osocza.

1.3

Medycyna personalizowana – nadzieje i zagrożenia

Lepsza ocena ryzyka wielu chorób. Współcześnie medycyna personalizowana odwołuje się do najnowszych osiągnięć biologii molekularnej i źródeł zmienności organizmów wynikających z różnic w obrębie genomu. Przypuszcza się, że szczegółowe poznanie genomu każdego z nas pozwoli na precyzyjne określenie ryzyka określonych chorób, poprzez wykrycie nosicielstwa wariantów genów z nimi związanych.

Jednak dotychczasowe dane nie potwierdzają tego założenia i wiele z wykrytych wariantów genów tylko w niewielkim stopniu wpływa na istniejące ryzyko, rzadko przekraczając wzrost względnego ryzyka o 50 procent. W odniesieniu do większości chorób – w tym także nowotworów – prawdopodobieństwo zachorowania w największym stopniu wiąże się z czynnikami środowiskowymi i stylem życia.

W niektórych przypadkach wykrycie genetycznego podłoża nie doprowadziło do wdrożenia nowych rodzajów terapii. Przykładowo,

w ciągu 25 lat od odkrycia mutacji w genach *BRCA1/2*, które zwiększają ryzyko raka sutka i jajnika, śmiertelność związana z rakiem sutka zmniejszyła się o 1/3, lecz nie ma to związku z żadną „personalizowaną terapią”.

Wiarygodność biomarkerów. Możliwość przeprowadzenia na szeroką skalę sekwencjonowania całego genomu stwarza ryzyko znalezienia przypadkowych związków pomiędzy wykrytymi wariantami a ryzykiem określonej choroby. Ich weryfikacja może wymagać kosztownych i czasochłonnych badań.

Indywidualizacja terapii. Podstawowa zasada medycyny personalizowanej polega na dobraniu terapii dla pojedynczego chorego. Istnieje zagrożenie, że w niektórych typach nowotworów odpowiedzialne mutacje mogą występować u pojedynczych chorych. W takiej sytuacji trudno zaplanować badania kliniczne, które obiektywnie oceniają korzyści z nowej metody terapii.

Redukcja kosztów. Teoretycznie personalizacja pozwoli na ograniczenie niepotrzebnych terapii i przyczyni się do redukcji kosztów pośrednich związanych z chorobą (świadczenia rentowe, hospitalizacje z powodu powikłań czy postępu choroby). Ponieważ jednak terapia celowana z założenia dotyczy małych grup pacjentów, poddanych wcześniej precyzyjnej selekcji, koszty leczenia są wysokie, niejednokrotnie przekraczają 100 tys. dolarów rocznie.

Ochrona informacji wrażliwych. Analiza całego genomu dostarcza ogromnej liczby informacji o pojedynczym człowieku. W miarę postępu wiedzy o zróżnicowaniu naszego gatunku możemy wykrywać warianty genetyczne związane z ryzykiem szeregu chorób. Istnieje potencjalne zagrożenie, że taka informacja może zostać niewłaściwie wykorzystana, na przykład przez towarzystwa ubezpieczeniowe.

Problemy związane z medycyną personalizowaną

Ochrona danych osobowych
Odmowa umowy ubezpieczeniowej
Trudności z zatrudnieniem
Dyskryminacja
Koszty
Wiarygodność biomarkerów

1.4

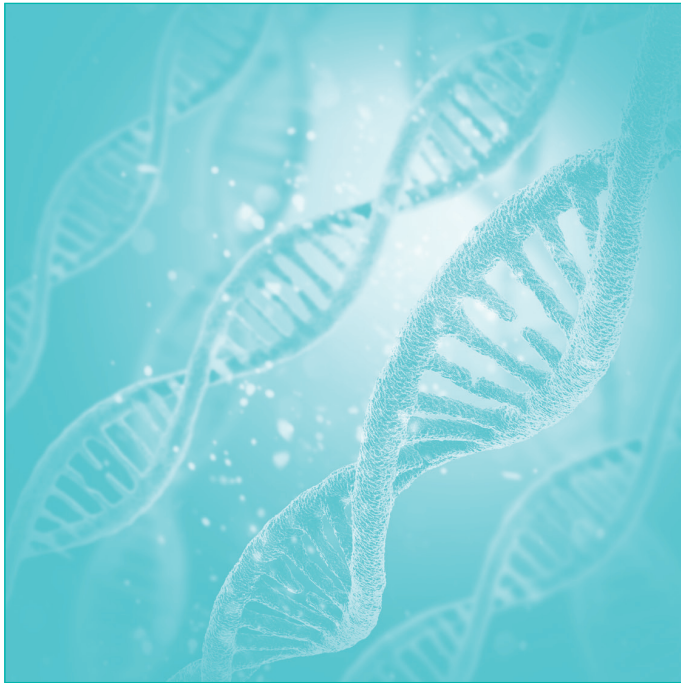
Podsumowanie

Istnieje wiele sytuacji (przewlekła białaczka szpikowa, rak płuca, czerniak), w których „rozpracowanie” zmienności DNA pozwala na wybór najbardziej skutecznej metody terapii i znacząco wydłuża życie chorych. Wydaje się, że w najbliższych latach możemy oczekiwać dalszych zastosowań medycyny personalizowanej, wykraczających poza onkologię.

Medycyna personalizowana oznacza ściśle współdziałanie diagnostyki i terapii (teranostyka = terapia + diagnostyka), ponieważ to właśnie precyzyjne metody diagnostyczne pomagają ustalić różnice między pacjentami chorującymi na tę samą chorobę, a następnie dopasowywać leczenie do konkretnych grup pacjentów. Diagnozowanie choroby na poziomie molekularnym pozwala na tworzenie leków bezpieczniejszych i – w długim okresie – bardziej opłacalnych.

Piśmiennictwo

1. Fye W.B., *The power of clinical trials and guidelines, and the challenge of conflicts of interest*, „J Am Coll Cardiol”, 2003; 41:1237-42.
2. Pfeffer M.A., Jarcho J.A., *The Charisma of Subgroups and the Subgroups of CHARISMA*, „N Engl J Med”, 2006; 354:1744-6.
3. Messerli F.H., Sulicka J., Gryglewska B., *Treatment of hypertension in the elderly*, „N Engl J Med”, 2008; 359:972-3.
4. Collins F.S., Varmus H., *A new initiative on precision medicine*, „N Engl J Med”, 2015; 372:793-5.
5. Pirmohamed M., James S., Meakin S. et al., *Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients*, „BMJ”, 2004; 329:15-19.
6. Bühler F.R., *Pathophysiology and clinical application of the renin system: early steps toward personalized medicine*, „Am J Hypertens”, 2014; 27: 996-9.
7. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J., „Clinical Trends in Molecular Medicine”, 2001; 7:201-204.
8. Gerlinger M. et al., *Intratumor Heterogeneity and Branched Evolution Revealed by Multiregion Sequencing*, „N Eng J Med”, 2012; 366:883-92.
9. Gaciong Z., *Medycyna personalizowana – nowa era diagnostyki i farmakoterapii*, „Biotechnologia” 2009; 5:11-17.
10. Joyner M.J., Paneth N., *Seven Questions for Personalized Medicine*, „JAMA”, 2015; 314:999-1000.



Rozdział 2

Teranostyka – połączenie terapii i diagnostyki

dr n. med. Artur Kowalik

Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii

Dzięki postępom medycyny wiele chorób można obecnie skutecznie leczyć lub spowalniać ich postępy. Jednak bardzo często pacjenci ze zdiagnozowaną chorobą reagują na to samo leczenie bardzo różnie. Dzieje się tak dlatego, że każdy człowiek jest wyjątkowy pod względem swojej kompozycji genetycznej, tj. ma niepowtarzalną konstelację wariantów genów i pozostałych sekwencji DNA, czyli ma tzw. unikatowy genom. Do niedawna pacjentów z daną chorobą leczono tymi samymi lekami. Obecnie przybywa leków przeznaczonych do leczenia choroby w konkretnej, wąskiej grupie pacjentów.

Przełomem okazało się ukończenie w 2003 r. sekwencjonowania pierwszego ludzkiego genomu. Projekt poznania ludzkiego genomu zapoczątkowały w 1990 r. Departament Energii USA oraz Narodowy Instytut Zdrowia USA. Później dołączyły do niego jeszcze inne kraje (Wielka Brytania, Francja, Japonia, Niemcy i Chiny), tworząc międzynarodowe konsorcjum.

Początkowo zakładano, że projekt będzie trwał 15 lat. Jednak dzięki konkurencji z prywatną firmą Celera, już w 2000 r. opublikowano pierwszą wersję ludzkiego genomu. Koszt poznania pierwszego ludzkiego genomu wyniósł 3 mld dolarów. Realizacja projektu wymusiła wytworzenie nowych urządzeń do automatycznego sekwencjonowania DNA oraz przyczyniła się do powstania technologii mikromacierzy (tj. płytek szklanych lub plastikowych z regularnie rozmieszczonymi polami, w których znajdują się krótkie sekwencje DNA, spełniające rolę sond rozpoznających fragmenty DNA lub RNA z badanej próbki).

Poznanie ludzkiego genomu otworzyło drogę do rozwoju medycyny personalizowanej. Dodatkowo, wzrastający koszt opieki medycznej wymusił poszukiwanie nowych metod precyzyjnej diagnostyki i terapii.

Medycyna personalizowana jest wielodyscyplinarną, dynamicznie rozwijającą się dziedziną, w której leczenie pacjenta prowadzi się w sposób zindywidualizowany, dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod diagnostycznych, w tym głównie biologii molekularnej. Dzięki takiemu podejściu poprawia się skuteczność leczenia, minimalizuje się działania niepożądane oraz automatycznie znacznie obniża się koszty leczenia. Informacje uzyskane dzięki zastosowaniu metod biologii molekularnej umożliwiają zaplanowanie leczenia dla danego pacjenta na podstawie jego osobistego profilu genetycznego (szczegółowa charakterystyka genetyczna danego pacjenta).

2.1

Stan obecny

Zapoczątkowanie ery medycyny personalizowanej stało się możliwe dzięki badaniom oraz technikom biologii molekularnej wynalezionym w drugiej połowie XX wieku, a szczególnie w latach 80.

i 90. Kluczowa wydaje się tu technika łańcuchowej reakcji polimerazy (ang. *polymerase chain reaction* – PCR), która umożliwiła upowszechnienie badań DNA oraz dała podstawy nowoczesnym testom diagnostycznym stosowanym teraz.

Obecnie medycyna personalizowana posługuje się coraz precyzyjniejszymi technikami, takimi jak: Real Time PCR (PCR w czasie rzeczywistym), mikromacierze, digitalny PCR (dPCR) czy sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) (tab. 2.1).

Tabela 2.1 Charakterystyka metod najczęściej wykorzystywanych w diagnostyce molekularnej nowotworów

Metoda	Czułość metody ¹	Zalety	Wady
Sekwencjonowanie sangerowskie	10–20%	wykrywa wszystkie mutacje i je identyfikuje	pracochłonna i mało czuła, wrażliwa na degradację DNA
HRM	5%	jest tania i szybka	wykrywa wszystkie mutacje, ale ich nie identyfikuje, wrażliwa na jakość DNA
Mikromacierze	2–5%	umożliwia wykrycie nawet do kilkunastu tysięcy mutacji w jednym eksperymencie, pozwala na zbadanie globalnej ekspresji genów czy miRNA	wykrywa mutacje, które są znane, jest pracochłonna
Pirosekwencjonowanie	1–5%	wykrywa wszystkie mutacje i je identyfikuje, jest metodą ilościową	pracochłonna, analizuje krótkie odcinki
qPCR	około 1%	jest szybka, mniej wrażliwa na degradację DNA	wykrywa ograniczoną liczbę mutacji, testy są drogie
NGS	1–5% ²	wykrywa wszystkie mutacje i je identyfikuje	pracochłonna i droga
ddPCR	0,01–1%	jest szybka, mniej wrażliwa na degradację DNA	wykrywa ograniczoną liczbę mutacji, testy są drogie

¹ Granica czułości, oznacza minimalną zawartość procentową allelu z mutacją w preparacie, którą wykrywa dana metoda; np. 1% oznacza, że metoda wykrywa do 1 molekuly z mutacją w mieszaninie zawierającej 99 molekuli bez mutacji.

² Czułość można podwyższyć, zwiększając pokrycie kosztem liczby analizowanych przypadków.

Przygotowywanie leków z przeciwciał monoklonalnych (rozpoznających ten sam antygen i produkowanych przez jeden klon limfocytów) nie byłoby możliwe, gdyby nie postępy w inżynierii genetycznej, czyli w technikach manipulacji genami, rozdzielania i łączenia na nowo DNA i RNA dla wytworzenia nowych właściwości

Tabela 2.2 Przykładowe przeciwciała monoklonalne (P) oraz drobnocząsteczkowe inhibitory (I) wykorzystywane w terapii celowanej nowotworów

Nazwa handlowa	Lek	Typ leku	Cel terapeutyczny
Rituksan	rytuksymab	P	białko CD20 na powierzchni komórek
Glivec	imatynib	I	<i>BCR-ABL</i> – gen fuzyjny, aberracja chromosomowa
Herceptyna	trastuzumab	P	receptor HER2
Glivec	imatynib	I	mutacje w genach <i>KIT</i> i <i>PDGRRRA</i>
Erbix	cetuksymab	P	EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu
Avastin	bewacyzumab	P	VEGF – czynnik wzrostu śródbłónka naczyń
Vectibix	panitumumab	P	EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu
Iressa	gefitynib	I	mutacja aktywująca w genie <i>EGFR</i>
Tarceva	erlotynib	I	mutacja aktywująca w genie <i>EGFR</i>
Sutent	erlotynib	I	inhibitor wielu kinaz (wszystkie receptory PDGFR, VEGFR1-3, KIT, RET)
Nexavar	sorafenib	I	inhibitor wielu kinaz (RAF, PDGFR beta, VEGFR1-3, KIT, RET, FMS)
Zelboraf	wemurafenib	I	zmutowane białko BRAF (głównie mutacja V600E)
Xalkori	kryzotynib	I	<i>EML4-ALK</i> – gen fuzyjny
Tafinlar	dabrafenib	I	zmutowane białko BRAF (głównie mutacja V600E)
Mekinist	trametynib	I	inhibitor MEK1&2 (obecność mutacji BRAF V600E)
Lynparza	olaparyb	I	inhibitor polimerazy poli (ADP-rybozy)-1 (PARP-1), która uczestniczy w naprawie uszkodzeń DNA
Keytruda	pembrolizumab	P	inhibitor negatywnego regulatora niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej

komórek, organizmów lub produkcji nowych substancji (tab. 2.2). Przeciwciała monoklonalne otrzymali po raz pierwszy w 1975 r. César Milstein oraz Georges Köhler. Również bez postępów w badaniach krystalograficznych prawidłowych i zmutowanych białek, w syntezie związków chemicznych oraz modelowaniu bioinformatycznym – nie byłoby możliwe stworzenie leków w postaci drobnocząsteczkowych inhibitorów kinaz (tab. 2.2).

Nowotwór	Częstość występowania mutacji	Rok rejestracji	Metoda diagnostyczna
chłoniak nieziarniczy	ND	1997	IHC, cytometria
przewlekła białaczka szpikowa	100%	1998	RT-PCR, FISH, cytogenetyka
rak piersi	20%	1998	FISH, IHC
GIST – nowotwory podścieliska przewodu pokarmowego	95%	2002	IHC, sekwencjonowanie DNA
rak jelita grubego	100%	2004	sekwencjonowanie DNA (KRAS, NRAS)
rak jelita grubego	ND	2004	brak
rak jelita grubego	100%	2006	sekwencjonowanie DNA (KRAS, NRAS)
niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP)	10% (populacja kaukaska)	2003 (USA) 2009 (UE)	sekwencjonowanie DNA, qPCR
NDRP	10% (populacja kaukaska)	2005	sekwencjonowanie DNA, qPCR
GIST, rak nerki	ND	2006	brak
rak nerki i rak wątrobowokomórkowy	ND	2005 (USA) 2006 (UE)	brak
czerniak	50%	2011 (USA) 2012 (UE)	sekwencjonowanie DNA, qPCR
NDRP	1–6%	2011	FISH, IHC, RT-PCR
czerniak	50%	2013	sekwencjonowanie DNA, qPCR
czerniak	50%	2013	sekwencjonowanie DNA, qPCR (dotyczy BRAF)
rak jajnika	18% – mutacje germinalne + 7 mut. somatyczne w <i>BRCA1/2</i>	2014	sekwencjonowanie DNA, qPCR, NGS (dotyczy genów <i>BRCA1/2</i>)
czerniak, NDRP	ND	2014 (USA – czerniak) 2015 (USA – NDRP)	IHC (tylko NDRP)

Początki medycyny personalizowanej dotyczą leczenia onkologicznego. Pierwszym lekiem terapii celowanej był rytuksymab (Rituxan, MabThera), stosowany w leczeniu chłoniaka nieziarniczego i przewlekłej białaczki limfocytowej, który został zarejestrowany w 1997 roku w USA (tab. 2.2). Rytuksymab to chimeryczne (ludzko-mysie) przeciwciało monoklonalne rozpoznające cząsteczkę białka (CD20) charakterystyczną dla komórek białaczkowych.

Rytuksymab, po przyłączeniu do komórki nowotworowej, uruchamia kaskadę układu immunologicznego, która doprowadza do jej zniszczenia. Rok po zarejestrowaniu rytuksymabu na rynku pojawia się kolejne przeciwciało monoklonalne – trastuzumab, stosowane w podtypie raka piersi z nadekspresją receptora HER2 (na powierzchni komórki nowotworowej pojawia się nadmierna ilość receptora, co powoduje stymulowanie podziałów komórki nowotworowej) (tab. 2.2). Rak piersi z nadekspresją receptora HER2 występuje u co piątej kobiety chorej na ten nowotwór. Aby racjonalnie i skutecznie leczyć, potrzeba było skonstruować test, który pomógłby „wychwycić” pacjentki, które mogą odnieść korzyść z leczenia. Wkrótce na rynku pojawiły się testy wykrywające ilość białka HER2 oraz liczbę kopii genu kodującego receptor HER2. Terapia celowana radykalnie zmieniła niekorzystny przebieg kliniczny tego subtypu raka piersi. 25 października 1998 roku amerykańska Federalna Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zaaprobowwała jednocześnie do leczenia trastuzumab oraz test wykrywający poziom białka na komórkach nowotworowych. Ten dzień uznano potem za początek teranostyki.

W tym samym okresie, dzięki rozwojowi technologii mikromacierzy RNA i DNA, stały się możliwe badanie ekspresji wielu tysięcy genów w jednym eksperymencie oraz globalna analiza zmian jednokleotydowych (polimorfizmów SNP) w genach (tab. 2.1). Szybko wprowadzono na rynek testy oceniające polimorfizmy w genach zaangażowanych w metabolizm leków stosowanych w leczeniu różnych chorób, takich jak zaburzenia psychiczne, choroby sercowo-naczyniowe oraz choroby nowotworowe. Testy tego typu mogą pomóc

w ustaleniu optymalnej dawki leku w zależności od tego, jak dany pacjent metabolizuje leki w wątrobie, co jest z kolei uzależnione od polimorfizmów w genach kodujących białka uczestniczące w metabolizmie. Pozwala to uniknąć braku efektu w przypadku niskiej dawki lub objawów toksyczności w przypadku zbyt wysokiej dawki leku dla danego pacjenta i automatycznie zaoszczędzić środki wydawane na nieskuteczne leczenie oraz leczenie powikłań.

Pierwszym drobnocząsteczkowym inhibitorem kinaz tyrozynowych był Glivec (imatinib), który okazał się bardzo skuteczny w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej (CML) oraz guzów zrębu przewodu pokarmowego (GIST). Wprowadzenie tego leku do terapii diametralnie poprawiło skuteczność leczenia tych chorób i wymusiło stosowanie metod diagnostyki molekularnej w celu selekcji pacjentów do terapii oraz monitorowania skuteczności leczenia (tab. 2.2).

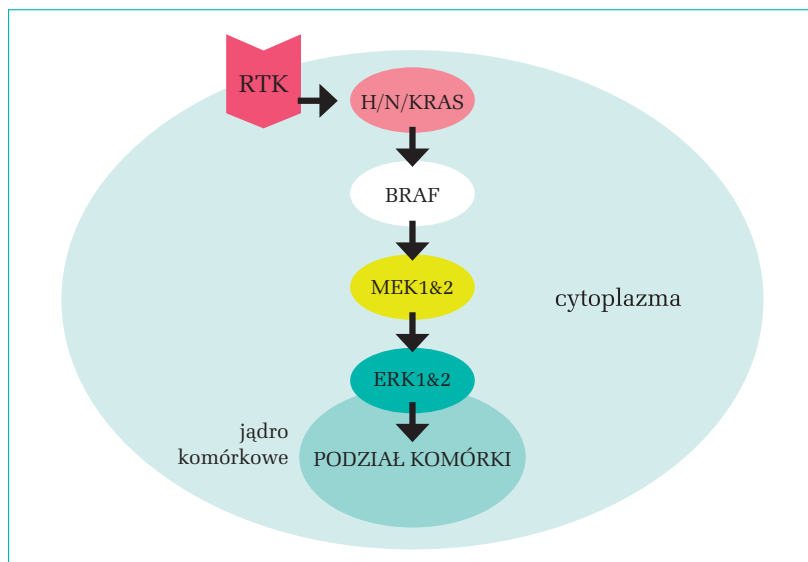
Na początku XXI wieku do leczenia nowotworów wprowadzane są kolejne przeciwciała monoklonalne oraz drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych i serynowo-treoninowych (kinazy tyrozynowe i serynowo-treoninowe są to białka mające zdolność przekazywania sygnałów stymulujących wzrost komórek) do leczenia nowotworów jelita, płuca, nerki, czerniaka i innych (tab. 2.2).

W przypadku raka jelita grubego okazało się, że przeciwciała (cetuksymab i panitumumab) blokujące funkcjonowanie receptora EGFR (receptor naskórkowego czynnika wzrostu, typ receptorowej kinazy tyrozynowej – RTK) są skuteczne tylko u pacjentów, u których nie występuje mutacja w genie kodującym białko KRAS. Białko KRAS leży w szlaku przekazywania sygnału poniżej receptora EGFR. Więc blokowanie receptora EGFR nie będzie skuteczne, jeżeli białka w szlaku poniżej są zmutowane i cały czas wysyłają sygnał do jądra komórkowego stymulujący podział komórki. Późniejsze badania wykazały, że w celu skuteczniejszego wyselekcjonowania chorych z rakiem jelita grubego trzeba jeszcze zbadać kolejny gen z kaskady przekazywania, tj. gen *NRAS* [1].

Szlak MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinase*) jest podstawowym wewnątrzkomórkowym szlakiem przekazywania sygnałów o fundamentalnym znaczeniu dla regulacji funkcji komórki, takich jak wzrost, proliferacja, różnicowanie i apoptoza.

Fizjologiczną aktywację szlaku zapoczątkowuje przyłączenie czynnika wzrostu, hormonu lub cytokiny do RTK. Dochodzi do dalszego przekazywania sygnału do wnętrza komórki przez fosforylację i aktywację kolejnych kinaz tego szlaku – RAS/RAF/MEK/ERK. Kończącym etapem przenoszenia sygnału z błony komórkowej jest przemieszczenie się zaktywowanych cząsteczek białek ERK do jądra komórkowego, gdzie aktywują one czynniki transkrypcyjne regulujące ekspresję genów zaangażowanych w regulację procesów komórkowych – wzrostu, proliferacji, różnicowania i apoptozy (ryc. 2.1) [1].

Ryc. 2.1 Schemat budowy szlaku kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK). RTK – receptorowa kinaza tyrozynowa np. EGFR, HER2, VEGFR1-3, KIT



Nic więc dziwnego, że mutacje w genach kodujących białka składowe tego szlaku występują bardzo często w różnych nowotworach. Receptor EGFR to również bardzo ważny cel terapii w przypadku nowotworów płuca. Różnica polega na tym, że w przypadku raka płuc wykorzystuje się drobnocząsteczkowe inhibitory blokujące zmutowany receptor EGFR. Jednym z najczęściej mutowanych białek szlaku MAPK jest białko BRAF. Gen kodujący białko BRAF jest zmutowany w 40–70% raków brodawkowatych tarczycy, 50% czerniaków oraz około 10–20% raków jelita grubego. W większości przypadków wykrywa się mutację c.1799 T>A (p.V600E).

Obecnie w badaniach przedklinicznych oraz klinicznych ocenia się kilkaset nowych leków (drobnocząsteczkowe inhibitory i przeciwciała monoklonalne) hamujących różne szlaki zaktywowane w przypadku kilkudziesięciu nowotworów.

Po okresie początkowego entuzjazmu, szybko okazało się, że pomimo selekcji metodami biologii molekularnej, leczenie nie u wszystkich pacjentów działa tak samo efektywnie lub wkrótce zawodzi. Pojawiającą się oporność w trakcie terapii celowanej wywołują mutacje, które zmniejszają lub uniemożliwiają przyłączenie się drobnocząsteczkowego inhibitora do miejsca aktywnego. Dzieje się tak w przypadku leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (tab. 2.2) między innymi z mutacją T315I w domenie wiążącej ATP w genie fuzyjnym *BCR/ABL*, która znacznie zmniejsza aktywność farmakologiczną imatynibu.

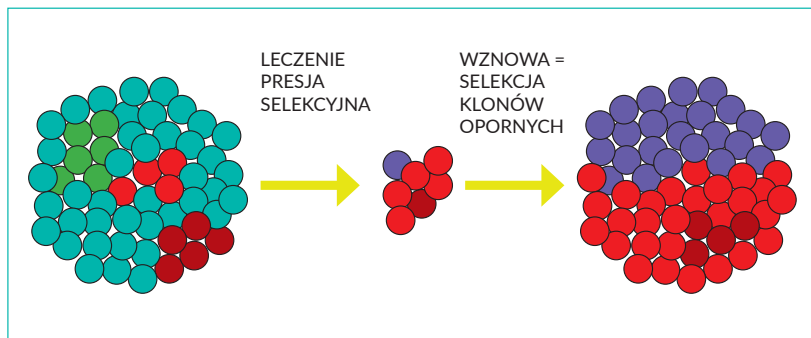
Mutacje mogą również zapobiegać przyłączaniu się monoklonalnego przeciwciała, jak ma to miejsce w przypadku receptora EGFR. Mutacja w domenie zewnątrzkomórkowej receptora EGFR (S492R) uniemożliwia przyłączanie się cetuksymabu, jednak nie powoduje oporności na panitumumab [2].

Przyczyną tego stanu, jak się okazało, jest heterogeniczność nowotworów i ewolucja guza pod wpływem leczenia. Heterogeniczność nowotworów to różnorodność klonów komórkowych tworzących guz nowotworowy. Natomiast klon komórkowy to grupa komórek

wywodząca się z jednej komórki. Komórki tworzące klon komórkowy są bardziej podobne do siebie (mają te same mutacje) w porównaniu z komórkami tworzącymi inne klony. Z kolei klony komórkowe tworzą poliklonalny guz nowotworowy, który nazywamy właśnie heterogenicznością nowotworów. W związku z tym w guzie nowotworowym są klony komórkowe podatne na leczenie oraz odporne.

W trakcie leczenia terapia celowana eliminuje komórki podatne na leczenie, ale równocześnie ułatwia rozwój klonom opornym w zasiedlaniu miejsc po eliminowanym konkurencie. Jest to ewolucja darwinowska w skali mikro, lek jest tu czynnikiem selekcyjnym, a klony komórkowe konkurują o byt. Tak właśnie następuje ewolucja guza nowotworowego, która ostatecznie prowadzi do oporności na leczenie (ryc. 2.2).

Ryc. 2.2 Schemat ewolucji guza pod wpływem terapii. Komórki koloru czerwonego i ciemnoczerwonego tworzą klony odporne na dane leczenie (mają mutację warunkującą oporność). Komórki koloru fioletowego, w których pojawiła się mutacja w trakcie terapii, także tworzą klon oporny na leczenie. Komórki koloru błękitnego i zielonego – komórki tworzące klony wrażliwe na dane leczenie (nie mają mutacji warunkującej oporność na dany lek)



Podejrzewa się, że mutacje warunkujące oporność na leczenie mogą być obecne już przed rozpoczęciem terapii, a także mogą powstawać w trakcie ewolucji guza w trakcie leczenia.

Wynikają z tego ważne implikacje dla leczenia onkologicznego:

- należy badać więcej genów dla lepszej stratyfikacji;**
- leczenie tylko jednym lekiem jest w większości przypadków skazane na niepowodzenie, dlatego trzeba podążać wielolekowym oraz sekwencyjnym schematem, analogicznym jak w przypadku HIV/AIDS;**
- leczenie powinno bazować na wynikach genotypowania uzyskanych na materiale pobieranym w trakcie nawrotu choroby za pomocą biopsji; problemem bardzo częstym jest brak możliwości wykonania biopsji z powodów anatomicznych lub braku zgody pacjenta – rozwiązaniem tego problemu w przyszłości będzie tzw. biopsja płynów.**

Jak wspomniano, badanie 1–2 genów (ich fragmentów) jest niewystarczające do stratyfikacji pacjentów do terapii celowanej. Na szczęście, w tym samym okresie, gdy do leczenia nowotworów coraz powszechniej stosowano terapię celowaną (pierwsza dekada XXI w.), trwały intensywne badania dotyczące ulepszenia i przyspieszenia metod sekwencjonowania DNA. Wkrótce na rynku pojawiły się sekwenatory mające przepustowość od tysiąca do miliona razy większą od sekwenatorów Sangerowskich (podstawowych urządzeń wykorzystanych do sekwencjonowania pierwszego ludzkiego genomu) (tab 2.3).

Tabela 2.3 Porównanie najpowszechniej obecnie wykorzystywanych technologii NGS w porównaniu z sekwencjonowaniem metodą Sangera w diagnostyce nowotworów

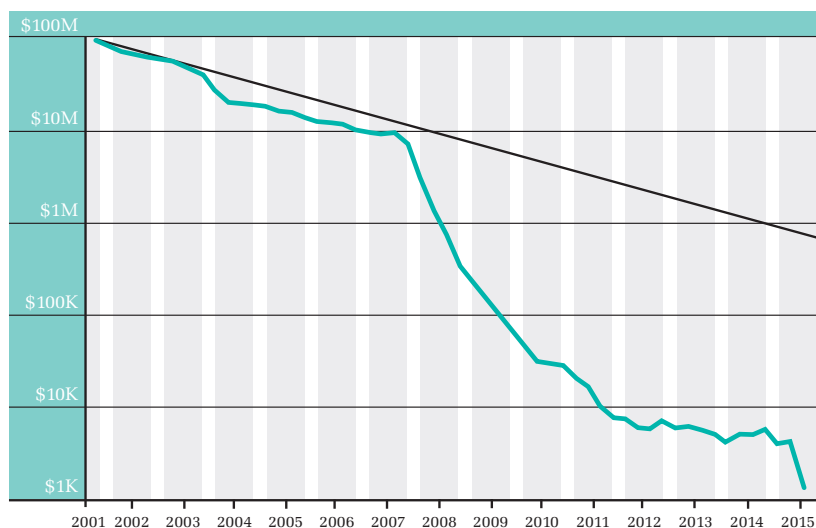
Metoda	Średnia długość odczytu (nukleotydy)	Średnia dokładność pojedynczego odczytu	Ilość odczytów (sekwencji) w jednym cyklu pracy	Czas pracy
Sekwencjonowanie Sangerowskie	400–900	99,9%	96–384	0,3-3 h
Proton półprzewodnikowy pomiar jonów (IonTorrent)	do 400	98%	do 80 mln	2 h
Personal Genome Machine – półprzewodnikowy pomiar jonów (IonTorrent) – ma CE IVD	do 400	98%	do 10 mln	2 h
Myseq – sekwencjonowanie przez syntezę (Illumina) ma CE IVD	2 x 300	99,9%	do 50 mln	56 h
HiSeq 4000 – sekwencjonowanie przez syntezę (Illumina)	2 x 150	99,9%	max 6 mld	1–3,5 dni
Nanopore Mk 1 MiniON	230 tys. – 300 tys.	96%	600 tys.	1 min – 48 h

Orientacyjny koszt sekwencjonowania 1 mln nukleotydów 1M (PLN)	Maksymalna sumaryczna długość odczytanej sekwencji w jednym cyklu pracy Gb = miliard nukleotydów	Zalety	Wady
9600	345 600	Złoty standard. Długie odczyty	Niepraktyczny i drogi do dużych projektów
2	12 Gb	Mniejszy koszt oraz szybkość sekwencjonowania	Błędy w odczycie homopolimerów (np. ciąg AAAAAAAAAA)
4	1 Gb	Bardzo mały koszt, szybkość i nadaje się do diagnostyki – panele genowe lub bakterie, wirusy	Błędy w odczycie homopolimerów (np. ciąg AAAAAAAAAA). Nie jest praktyczne ani ekonomiczne wykonanie sekwencjonowania dużych projektów, np. sekwencjonowanie genomu człowieka
2	15 Gb	Bardzo mały koszt, nadaje się do diagnostyki – bardzo duże panele genowe, transkryptom, egzom lub bakterie, wirusy	Nie nadaje się do praktycznego i ekonomicznego wykonywania dużych projektów, np. sekwencjonowanie genomu człowieka
0,2–0,6	1500 Gb	Bardzo wysoka przepustowość oraz realizacja bardzo dużych projektów sekwencjonowania – w tym genomicznych badań populacyjnych	Koszt zakupu sprzętu bardzo wysoki oraz wymagająca infrastruktura i analiza olbrzymich ilości danych
0,3	6 Gb	Urządzenie ma bardzo małą wielkość (W 105, H 23, D 33 mm) i przyłącza się za pośrednictwem USB do komputera. Bardzo szybkie. Nadaje się do identyfikacji mikrobiologicznej	Nowa technologia, nie ma jeszcze dużego wyboru programów do analizy danych, stosunkowo niska dokładność

Źródło: tabela skonstruowana na podstawie opublikowanych danych literaturowych oraz informacji ze stron producenta i internetowych serwisów informacyjnych, dane w tabeli trzeba więc traktować jako orientacyjne – przybliżone.

Obecnie na dobre rozpoczyna się era sekwencjonowania następnej generacji (ang. *next generation sequencing* – NGS). Urządzenia te są w stanie zsekwencjonować jeden cały ludzki genom w ciągu jednego do kilku dni za kwotę około 8–10 tys. zł! W USA koszt ten obecnie wynosi 1363 dolary (ryc. 2.3).

Ryc. 2.3 Koszt sekwencjonowania ludzkiego genomu w dolarach na przestrzeni 15 lat



Źródło: Wetterstrand K.A., DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). Available at: www.genome.gov/sequencingcosts, [dostęp 30.12.2015] (publikacja ryciny za zgodą autora).

Należy się spodziewać, że w ciągu kilku lat koszty sekwencjonowania jeszcze się obniżą, ponieważ nieustannie opracowywane są nowe technologie, a przepustowość obecnych jest zwiększana. Postęp, jaki się dokonał w technologii sekwencjonowania w ciągu 10 lat jest niewyobrażalny, gdy przypomnimy sobie, że sekwencjonowanie pierwszego ludzkiego genomu zajęło 10 lat i kosztowało 3 mld dolarów, a do jego przeprowadzenia potrzebne było międzynarodowe konsorcjum!

Obecnie problemem staje się przechowywanie danych uzyskanych z sekwencjonowania (pliki wielkości Tb – terabit = 10^{15} bitów) oraz interpretacja – w kontekście klinicznym – tej ogromnej „powodzi danych”. Należy się spodziewać, że dzięki zaawansowanym algorytmom bioinformatycznym, w tym systemom samouczącym się (ang. *machine learning* – automatyczny system potrafiący się doskonalić przy pomocy gromadzonego doświadczenia, czyli danych) łączącym i integrującym różne medyczne bazy danych, problem „powodzi danych” z NGS zostanie rozwiązany, co wpłynie na upowszechnienie wykorzystywania tej technologii w medycynie oraz innych naukach przyrodniczych.

Dzięki technologii NGS rozpoczęto projekt sekwencjonowania 1000 ludzkich genomów (ang. *1000 Genomes*) mający na celu poznanie różnorodności populacji ludzkiej na poziomie genomu. Projekt rozszerzono i niedawno ogłoszono katalog strukturalnych zmian w ponad 2500 ludzkich genomach.

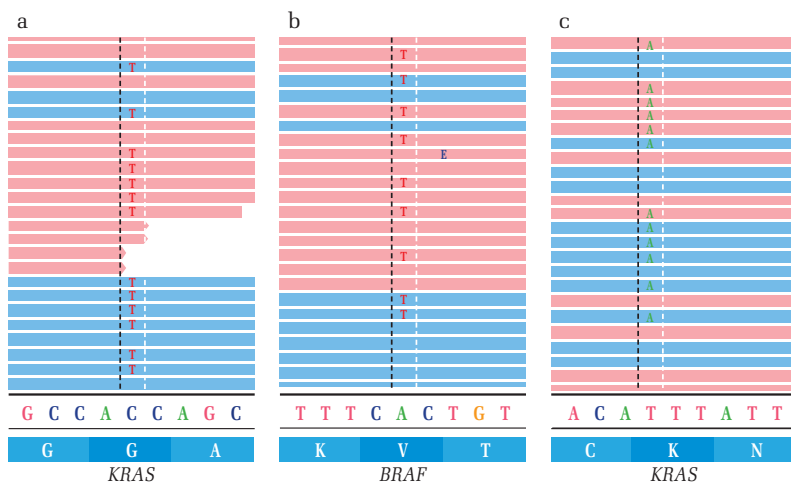
Drugi projekt to Atlas Genomu Nowotworowego (ang. *The Cancer Genome Atlas Project*), którego celem jest kompleksowa charakterystyka genomu nowotworowego na różnych poziomach, tj. DNA, RNA i białka. Do tej pory scharakteryzowano ponad 11 tys. par próbek (tkanka nowotworowa + tkanka prawidłowa) reprezentujących 33 nowotwory, w tym 10 rzadkich. Realizacja tego projektu już zaowcowała zmianami w klasyfikacji nowotworów oraz wykryciem nowych celów diagnostyki i terapii celowanej.

W chwili obecnej na rynku dostępnych jest kilkanaście urządzeń do NGS (tab. 2.3) o różnej przepustowości. Część z nich przeznaczona jest do sekwencjonowania w mniejszej skali – w jednym eksperymencie mogą one zsekwencjonować do kilkuset genów, cały egzom (wszystkie sekwencje kodujące białko w genomie) lub transkryptom (wszystkie sekwencje DNA ulegające ekspresji w postaci RNA), ale nie mają przepustowości potrzebnej do zsekwencjonowania całego genomu człowieka. Dzięki tego typu urządzeniom, technologia ta na dobre zdomowiła się w laboratoriach diagnos-

tycznych na całym świecie, w tym również w kilku laboratoriach w Polsce (m.in. Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO w Kielcach, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie, Warszawski Uniwersytet Medyczny czy Zakład Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego). Z drugiej strony należy dodać, że w chwili obecnej nie jesteśmy w stanie interpretować całego genomu – z powodu braku danych korelacji klinicznych, które dopiero są tworzone i gromadzone. Zatem w chwili obecnej większość tych informacji jest klinicznie bezużyteczna.

Dzięki technologii NGS, coraz częściej do stratyfikacji pacjentów do terapii celowanej stosuje się analizę paneli genowych obejmujących kilkanaście do kilkudziesięciu genów w jednym teście, których status jest istotny dla włączenia lub wykluczenia pacjentów z leczenia danym lekiem (ryc. 2.4).

Ryc. 2.4 Przykłady zastosowania technologii NGS w stratyfikacji pacjentów do terapii celowanej. Mutacje *KRAS* exon 2 c.35G>A (p.G12D), *KRAS* exon 4 c.351A>T (p.K117N) wykryte w raku jelita grubego oraz mutacja *BRAF* exon 15 c.1799T>A (p.V600E) wykryte w czerniaku. Wyniki uzyskane z wykorzystaniem sekwenatora NGS PGM IonTorrent. (Mgr Sebastian Zięba, Zakład Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach)



Dzięki NGS możliwe staje się precyzyjniejsze dobranie terapii celowanej (w tym kombinacji leków) w większej grupie pacjentów. Dzięki stosowaniu kombinacji leków zmniejsza się ryzyko wystąpienia oporności lub znacznie się przedłuża okres wolny od progresji czy nawrotu choroby [3]. Dobrym przykładem jest tu stosowanie dwóch leków (inhibitora BRAF oraz inhibitora MEK) w przypadku czerniaka rozlanego z wykrytą mutacją w genie *BRAF*. Całkowite przeżycie wydłużyło się kilkukrotnie w ciągu ostatnich 4 lat: z 6 miesięcy do średnio 2 lat! Natomiast czas wolny od progresji to obecnie około 12 miesięcy. To wielki sukces w terapii tej bardzo agresywnej choroby nowotworowej.

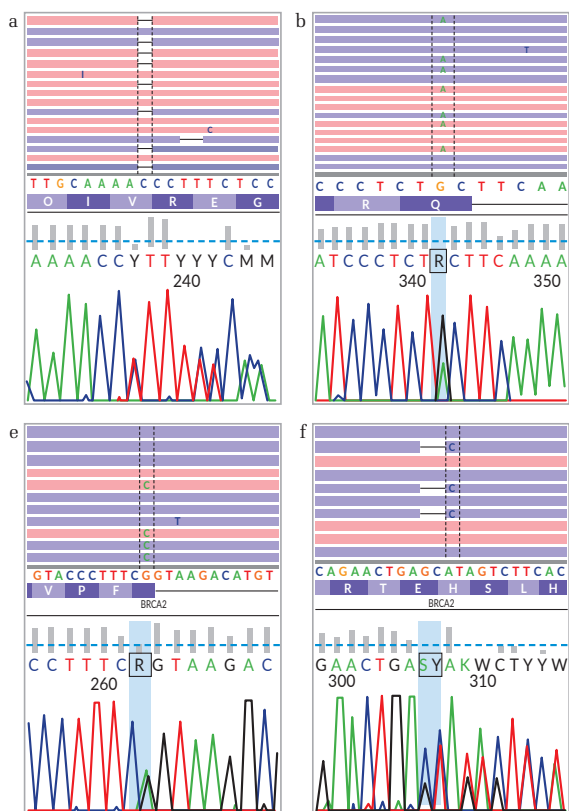
Również dzięki technologii NGS możliwa stała się w naszym kraju diagnostyka wszystkich sekwencji kodujących genów *BRCA1* i *BRCA2*. Do tej pory wykonywano jedynie panel kilku mutacji założycielskich (mutacje charakterystyczne dla danej grupy ludzi odziedziczone po wspólnym przodku i utrwalone w danej populacji przez jej względną izolację od innych populacji ludzkich). Bardzo często się zdarza, że w przypadku pacjentek pochodzących z rodzin, w których występowały liczne zachorowania na raka piersi i jajnika wśród bliskich krewnych, mutacji założycielskich charakterystycznych dla populacji polskiej się nie wykrywa. Wtedy z pomocą przychodzi badanie NGS *BRCA1&2*, które w znacznej części przypadków rodzin bez mutacji założycielskich w *BRCA1/2* pozwala wykryć mutację odpowiedzialną za agregację raków piersi czy jajnika w danej rodzinie.

Poszerzona diagnostyka jest szczególnie ważna w przypadku raka jajnika, gdzie nie ma żadnych dobrych markerów pomocnych we wczesnym wykryciu tej agresywnej choroby nowotworowej. Wykrycie mutacji w danej rodzinie daje obecnie jedyną szansę na uchronienie kobiet zdrowych będących nosicielkami mutacji przed rozwojem raka jajnika, poprzez włączenie ich do programu profilaktycznego, w którym kobietą opiekuje się genetyk kliniczny, ginekolog, onkolog oraz psycholog. Taki zespół prowadzi pacjentkę, pomagając w za-

planowaniu założenia rodziny, poprzez ewentualne profilaktyczne usunięcie jajników wraz z przydatkami oraz cykliczne kontrole.

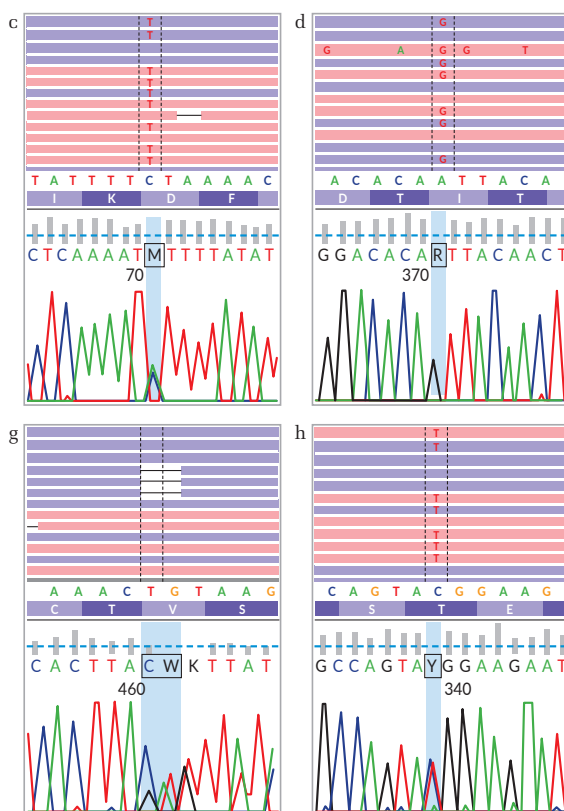
Dodatkowo, dostępna obecnie terapia celowana (inhibitory PARP-1) skuteczna w przypadku rozpoznania raka jajnika z wykrytą mutacją germinálną (mutacja dziedziczna, obecna we krwi) lub somatyczną (mutacja niedziedziczna, obecna tylko w tkance po-

Ryc. 2.5 Przykłady wykrytych mutacji, polimorfizmów oraz wariantów o nieznanym znaczeniu klinicznym (ang. *VUS*) z wykorzystaniem NGS, potwierdzone za pomocą sekwencjonowania metodą Sanger: *BRCA1*: a – p.V757Rfs*8; b – p.Q1349*; *BRCA2*: c – p.D1420Y, d – p.I3412V, e – p.R2336H, f – p.N2089Hfs*2, g – p.V1283Kfs*2, h – p.T3401M. (Mgr Sebastian Zięba, Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO, Kielce)



operacyjnej raka jajnika) w *BRCA1/2* wymusza konieczność stosowania NGS, aby zakwalifikować jak największą liczbę kobiet do tej terapii, zwłaszcza że w raku jajnika skuteczne możliwości terapeutyczne są nieliczne.

Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO w Kielcach od 2014 roku prowadzi rutynową diagnostykę sekwencji kodujących *BRCA1/2* dla pacjentów pochodzących z rodzin, w których licznie występowały raki piersi i/lub jajnika lub rak wykryto w bardzo młodym wieku, a nie wykryto mutacji założycielskich w *BRCA1/2* charakterystycznych dla populacji polskiej (ryc. 2.5).



2.2

Perspektywy terapii celowanej

Pomimo opisanych powyżej sukcesów terapii celowanej, okazało się, że w przypadku nowotworów litych materiał jest bardzo trudno dostępny dla regularnego monitorowania skuteczności leczenia. Dodatkowo, heterogeniczność nowotworów sprawia, że pojedyncza biopsja nie odzwierciedla biologii choroby nowotworowej. Precyzyjne dopasowanie terapii to dopiero początek procesu leczenia. Nie mniej istotne jest właśnie regularne monitorowanie skuteczności leczenia. Nierzadko w przypadku zaawansowanej choroby nowotworowej (rak płuca, jelita czy piersi) występują trudności w pozyskaniu materiału diagnostycznego, co wprowadza dodatkowy czynnik obciążający i stresujący (obok samej choroby) dla pacjenta.

Istnieje potrzeba poszukiwania innych źródeł materiału, który byłby łatwo pobierany i dostarczał danych diagnostycznych do regularnego monitorowania skuteczności leczenia.

Materiałem o takich cechach jest krew obwodowa, która dociera do wszystkich komórek organizmu. Od XIX w. wiadomo, że we krwi pacjentów z nowotworami niehematologicznymi krążą komórki nowotworowe (ang. *circulating tumour cells* – CTC, krążące komórki nowotworowe) w ilościach 1–10/ml krwi. Zwykle guz pierwotny bardzo dobrze reaguje na zastosowane leczenie, podczas gdy choroba uogólniona (obecne odległe przerzuty) bardzo trudno udaje się stabilizować, nie wspominając już o kontrolowaniu. Dlatego też przerzuty odległe są odpowiedzialne za 90% zgonów. Za powstawanie odległych przerzutów odpowiadają właśnie CTC. Szacuje się, że guz uwalnia do krwiobiegu każdego dnia tysiące komórek, które stają się CTC [1, 4, 5].

W wieku XX dowiedziono również, że w osoczu pobranym od pacjentów onkologicznych można wykryć krążące nowotworowe DNA (ang. *circulating tumor DNA* – ctDNA), którego źródłem są komórki nowotworowe ulegające apoptozie (samobójczej śmierci

komórki). Udowodniono, że ctDNA może być źródłem materiału diagnostycznego [1, 6].

CTC i ctDNA to potencjalne źródła materiału diagnostycznego. Pozyskiwanie ich określa się jako biopsję płynów (ang. *liquid biopsy*).

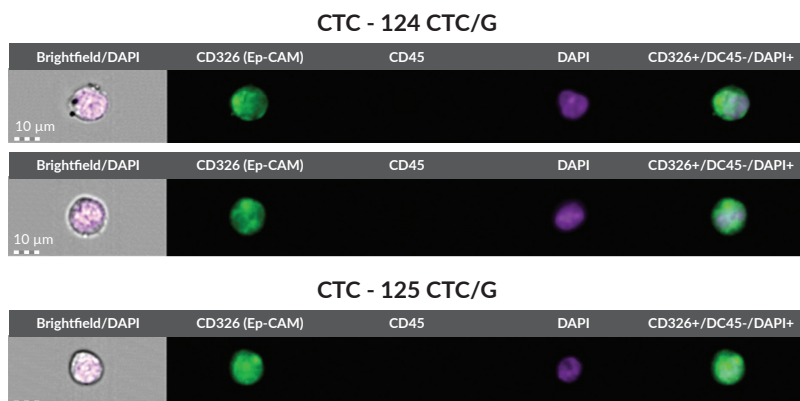
Wykorzystywanie CTC jako markera użytecznego klinicznie jest od 10 lat bardzo intensywnie badane. Analiza poziomu CTC wykrywa nawrót choroby od 3 do 6 miesięcy wcześniej w porównaniu ze standardowymi metodami radiologicznymi. Przeprowadzone badania wskazują, że analiza CTC może ułatwić, a niekiedy w ogóle umożliwić personalizację terapii. Jest tak w przypadku nowotworów piersi, w których guz pierwotny może nie wykazywać ekspresji receptora HER2. Natomiast z biegiem leczenia fenotyp choroby może się zmieniać na HER2+. Odkrycie to było możliwe dzięki wykryciu i analizowaniu CTC, które wykazywały fenotyp HER2+. Może to być podstawą do wdrożenia terapii celowanej w tej grupie pacjentów. Udowodniono również możliwość wykorzystania CTC jako źródła materiału do wykrywania mutacji w genie *EGFR* w przypadku raka płuca i stratyfikacji pacjentów do terapii celowanej. W przypadku raka jelita grubego również wykryto, iż poziom CTC jest niezależnym czynnikiem prognostycznym czasu wolnego od progresji oraz przeżycia całkowitego, będąc uzupełnieniem danych radiologicznych. Wartość kliniczna CTC była oceniana również w innych nowotworach litych, takich jak rak trzustki, wątroby, prostaty czy czerniak. Podobnie wykazywano korelacje ze stopniem zaawansowania i wynikami leczenia.

Wyzwaniem jest wykrywanie CTC w stadiach choroby miejscowo zaawansowanej (bez przerzutów do okolicznych węzłów chłonnych oraz przerzutów odległych do innych narządów), ze względu na bardzo małą liczbę CTC wykrywanych u 95% pacjentów. Badanie CTC u pacjentek z miejscowo zaawansowanym rakiem piersi pozwoliłoby na monitorowanie skuteczności leczenia pooperacyjnego (adjuwantowego), co mogłoby zapobiec nawrotom choroby. Zrealizowanie tego

zadania wymaga zaprojektowania czulszych metod do wykrywania bardzo niskiego poziomu CTC w nowotworach o niskim stopniu zaawansowania w porównaniu z obecnie wykorzystywanymi (np. *CellSearch*) [1, 4, 5].

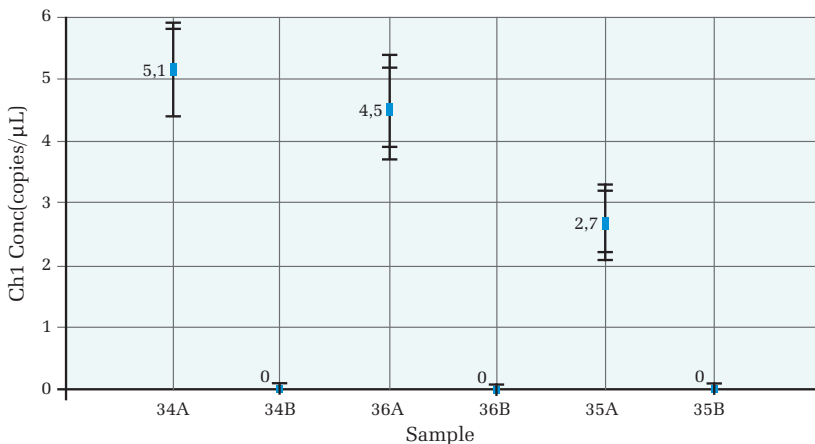
Obecnie CTC nie są wykorzystywane jako marker prognostyczny i predykcyjny, ponieważ jest wiele niejasności co do ich klinicznego znaczenia w leczeniu nowotworów litych. Należy się jednak spodziewać wzrostu znaczenia klinicznego CTC, szczególnie w lokalnie zaawansowanej chorobie nowotworowej, dzięki bardzo dynamicznemu rozwojowi różnorodnych technik wykrywania i analizy CTC (ryc. 2.6). Przełoży się to również na wzrost znaczenia diagnostycznego i prognostycznego CTC i ułatwi personalizację leczenia onkologicznego.

Ryc. 2.6 Przykłady wykrytych 1 i 2 CTC na 125 tys. przeanalizowanych komórek z próbki krwi pobranej od pacjentek przed zabiegiem operacyjnym z powodu raka jajnika. Analizę wykonano za pomocą cytometrii przepływowej z analizą obrazu; CD45 – marker leukocytów, DAPI – barwi jądro komórkowe, CD326 (Ep-CAM) – marker nabłonkowy (ImageStream Mark II, mgr Krzysztof Gruszczyński, Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO, Kielce)



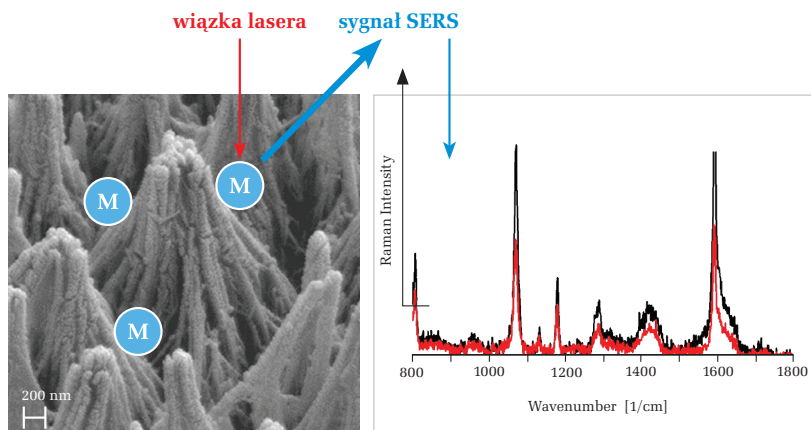
Z kolei ctDNA, stosując obecnie dostępne metody, wykrywa się u 50–75% pacjentów z zaawansowanym, jak również zlokalizowanym nowotworem np. piersi czy czerniaka (ryc. 2.7). Może to wynikać z tego, że ctDNA stanowi 1,4–47,9% cfDNA (*cell free DNA*) w krwiobiegu pacjentów onkologicznych. ctDNA może znaleźć zastosowanie jako materiał diagnostyczny, predykcyjny i prognostyczny. Dużą zaletą analizy ctDNA jest możliwość wcześniejszego – nawet do 10 miesięcy – wykrycia progresji choroby w porównaniu z metodami radiologicznymi. Potrzeba jednak jeszcze czulszych metod do detekcji ctDNA, bazujących na nowych technologiach, aby wykrywać ctDNA w zawartości 0,2% całego wolno krążącego DNA (cfDNA) w osoczu [1, 6].

Ryc. 2.7 Biopsja płynów – przykład z digitalnego PCR oceniającego liczbę kopii zmutowanego ctDNA BRAF V600E. Próbkę osocza pobrano od trzech pacjentów (34, 35 i 36) chorych na rozszianego czerniaka przed rozpoczęciem leczenia (A) i po 6 tygodniach leczenia (B) wemurafenibem (drobnocząsteczkowy inhibitor zmutowanego białka BRAF V600E). Wykres przedstawia liczbę kopii ctDNA z mutacją *BRAF* V600E w jednym μL osocza pobranego od pacjenta. (Mgr Małgorzata Chłopek, Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO, Kielce)



Z powyższych rozważań wynika, że do realizacji tych celów potrzeba metod przynajmniej o czułości rzędu 10^5 – 10^7 . Taką właśnie obiecującą metodą może być powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramanowska (ang. *surface enhanced Raman spectroscopy* – SERS). W wytwarzaniu platform SERS specjalizuje się Instytut Wysokich Ciśnień Polskiej Akademii Nauk w Warszawie (opatentowana technologia). Platforma SERS jest zbudowana z foto-

Ryc. 2.8 Schemat budowy i działania platform SERS (dzięki uprzejmości prof. dr. hab. Jana Weyhera, IWC-PAN)



Obraz SEM foto-trawionej powierzchni GaN: platforma SERS wykonana w IWC-PAN

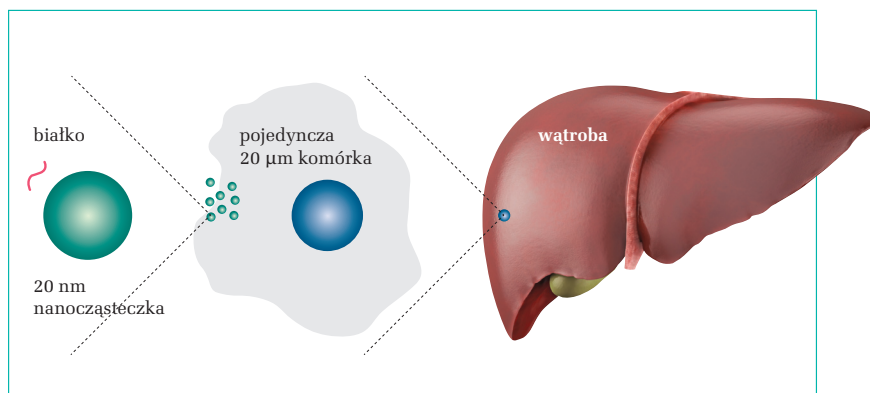
Widmo SERS piryny
(prof. dr hab. A. Kudelski, UW)

M badane molekuly

wytrawionych powierzchni azotku galu (GaN), na które nakłada się powłokę z metali lub stopów metali (Au, Ag, Cu) (ryc. 2.8). Dzięki takiej konstrukcji platforma daje wysoki współczynnik wzmocnienia – $EF=10^4$ – 10^7 , dający dużą dokładność przy niewielkich ilościach analitu (białko, związek chemiczny czy fragment DNA) nałożonego na platformę i analizowanego za pomocą spektroskopii Ramanowskiej [7].

Technologia o czułości 10^5 – 10^7 może pozwolić na regularne monitorowanie leczenia pacjenta, jak również wczesne wykrywanie wznowy. Technologie o wspomnianej czułości powinny umożliwić wykrywanie wczesnego rozsiewu choroby nowotworowej na poziomie molekularnym. Obecnie stosowane metody radiologiczne nie są na tyle czułe, aby wykryć wczesny rozsiew choroby. W tym upatruje się źródła nawrotu choroby pomimo doszczętności usunięcia nawet małego guza pierwotnego i zastosowaniu chemioterapii pooperacyjnej. Od dawna podejrzewa się, że guz pierwotny uwalnia komórki nowotworowe do krwiobiegu na bardzo wczesnym etapie choroby, zanim zacznie dawać kliniczne objawy. Bardzo czuła i specyficzna technologia pozwoli w przyszłości oceniać stopień zaawansowania choroby nowotworowej na poziomie molekularnym i klinicznie bezobjawowym, dając informacje i czas onkologowi do zaplanowania skutecznej terapii. Próby wykorzystania technologii SERS do wykrywania mutacji w ctDNA prowadzi Zakład Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach we współpracy z Instytutem Wysokich Ciśnień PAN.

Ryc. 2.9 Średnia wielkość nanocząstek (dzięki uprzejmości dr Bożeny Sikory, IF PAN, Warszawa)



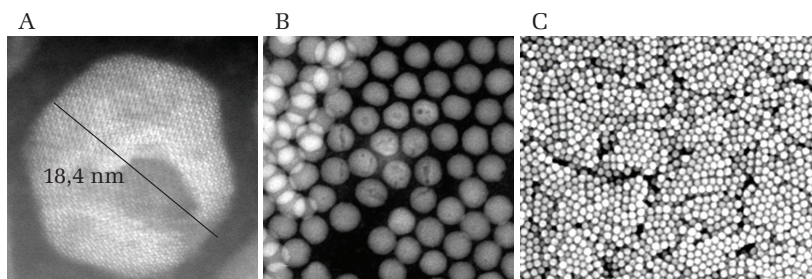
Ideałem terapii i diagnostyki byłaby możliwość jednoczesowej realizacji tych procedur. Bardzo duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem nanotechnologii. Nanotechnologia to dział zajmujący się technikami i metodologią tworzenia struktur w rozmiarach nano (1–100 nm, 1 nm to jedna milionowa milimetra) (ryc. 2.9).

Bardzo intensywnie prowadzone są prace nad wielofunkcjonalnymi nanocząstkami. Cząstki o wielkości do 30 nm mogą swobodnie wnikać do komórek i wywoływać określony efekt biologiczny (ryc. 2.10). Za pomocą kontrolowanej syntezy chemicznej, wykorzystując metale szlachetne oraz różnego rodzaju związki polimerowe można zsyntetyzować nanocząstki o pożądanych właściwościach. Przykładowo – mogą posiadać jednocześnie właściwości luminescencyjne, magnetyczne oraz – dzięki dodaniu związków organicznych zwanych fotouczulaczami – pod wpływem światła o określonej długości fali mogą wytwarzać reaktywne formy tlenu. Mogą więc być zastosowane do diagnostyki i terapii fotodynamicznej, które są mało inwazyjnymi i stosunkowo niskotoksycznymi sposobami leczenia nowotworów.

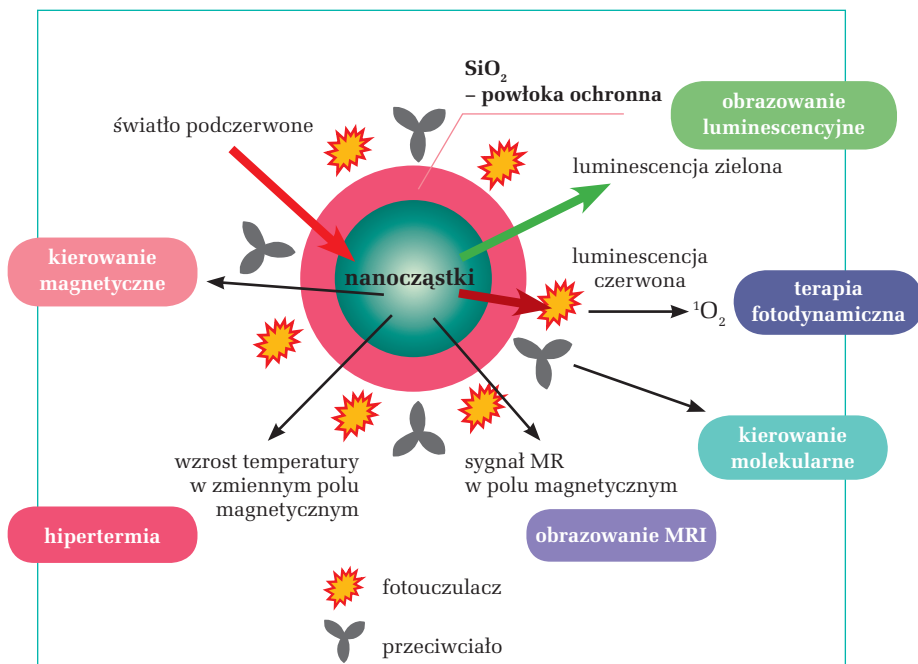
Przylączając do nanocząstek przeciwciała rozpoznające białka charakterystyczne dla komórki nowotworowej, można uzyskać wysoką specyficzność i celowe działanie antynowotworowe.

Z kolei dzięki właściwościom magnetycznym można (wykorzystując rezonans magnetyczny) uwidocznić położenie nanocząstek, a pośrednio struktur (w tym przypadku guza nowotworowego) do których się „przyczepiły”. Właściwości magnetyczne nanocząstek można również wykorzystać do hipertermii, która polega na tym, że pod wpływem zmiennego pola magnetycznego nanocząstki ogrzewają selektywnie tkankę nowotworową, powodując jej obumarcie. Natomiast dzięki fotouczulaczom można również bardzo selektywnie zniszczyć komórki nowotworowe (ryc. 2.11). Nanocząstki mogą być również wykorzystane jako precyzyjne nanonośniki: cząsteczek RNA (mikroRNA, czy siRNA) o właściwościach regulatorowych, które komórce mogą blokować ekspresję onkogenów

Ryc. 2.10 A: Obraz pojedynczej nanocząstki NaYF₄, B: obraz wielu nanocząstek. A i B: otrzymane z transmisyjnego mikroskopu elektronowego przez Sławomira Kreta (IF PAN). C: Obraz nanocząstek otrzymany za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego przez Tomasza Wojciechowskiego (IF PAN) (dzięki uprzejmości prof. Danka Elbauma, IF PAN)



Rysunek 2.11 Działanie wielofunkcyjnej nanocząstki optyczno-magnetycznej (dzięki uprzejmości dr Bożeny Sikory, IF PAN, Warszawa)



w komórkach nowotworowych, leków chemioterapeutycznych (np. doksorubicyny) [8, 9].

Również w naszym kraju trwają bardzo intensywne badania dotyczące nanocząstek. Nanocząstki syntetyzowane przez zespół prof. Danka Elbauma (IF PAN), dzięki ich kompozycji pierwiastkowej są pobudzane światłem podczerwonym, które w porównaniu do światła widzialnego ma lepszą zdolność do penetracji narządów wewnętrznych. Może więc być z powodzeniem zastosowane nie tylko do leczenia nowotworów skóry czy błon śluzowych narządów wewnętrznych, ale i nowotworów w głębszych lokalizacjach.

Dodatkowo nanocząstki te mają właściwości paramagnetyczne i fluorescencyjne, a po wprowadzeniu do żywych komórek nie wykazują wpływu toksycznego [9]. Zakład Diagnostyki Molekularnej ŚCO we współpracy z IF PAN prowadzi badania nad zastosowaniem nanocząstek do diagnostyki i leczenia nowotworów ze względu na ich unikatowy potencjał diagnostyczno-terapeutyczny, w tym wykrywanie CTC we krwi pacjentów onkologicznych.

2.3

Podsumowanie

Przełom XX i XXI wieku bez wątpienia przyniósł ogromny postęp w naukach biomedycznych, a równocześnie w diagnostyce i leczeniu chorób nowotworowych. Dzięki połączeniu nowoczesnych metod biologii molekularnej, postępom w syntezie chemicznej oraz wykorzystaniu wielofunkcyjnych właściwości nanocząstek, przybliżamy się do medycyny personalizowanej realizowanej za pomocą teranostyki – czyli jednoczesowej precyzyjnej diagnostyki i terapii chorób nowotworowych.

Jesteśmy świadkami ogromnego postępu w diagnostyce i terapii chorób nowotworowych. Na naszych oczach urzeczywistnia się kon-

cepcja medycyny personalizowanej. Jest jeszcze wiele do zrobienia oraz niemało wyzwań przed nami. Jednym z nich jest pełne zrozumienie kontekstu klinicznego masowo pozyskiwanych danych genomowych. Aby zrealizować ten cel i w pełni wykorzystać te cenne dane, trzeba rozwiązać problem ich gromadzenia oraz kompleksowej integracji z danymi klinicznymi oraz wieloletnią obserwacją chorych.

Kompleksowe i zintegrowane dane będą użyteczne dla prewencji, diagnostyki i skutecznego leczenia chorób nowotworowych. Nowoczesnego społeczeństwa nie stać na brak medycyny personalizowanej, a tym bardziej na brak aktywności w rozwijaniu tej dziedziny wiedzy i medycyny, zarówno w zakresie diagnostyki, jak i terapii.

Piśmiennictwo

1. Domagała P., Kowalik A., *Badanie molekularnych markerów wykorzystywanych w leczeniu chorych na raka jelita grubego*, „Pol J Pathol”, 2014; 65 (4) (suplement 1): s. 59-77.
2. Montagut C., Dalmases A., Bellosillo B. et al., *Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer*, „Nat Med”, 2012 Jan 22;18(2):221-3.
3. Shaw A.T., Friboulet L., Leshchiner I. et al., *Resensitization to Crizotinib by the Lorlatinib ALK Resistance Mutation L1198F*, „N Engl J Med”, 2015 Dec 23. [Epub ahead of print].
4. Ligthart S.T., Bidard F.C., Decraene C. et al., *Unbiased quantitative assessment of Her-2 expression of circulating tumor cells in patients with metastatic and non-metastatic breast cancer*, „Ann Oncol”, 2013. 24(5): p. 1231-8.
5. Maheswaran S., Sequist L.V., Nagrath S. et al., *Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells*, „N Engl J Med”, 2008. 359(4): p. 366-77.

6. Forsheew T., Murtaza M., Parkinson C. et al., *Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA*, „Sci Transl Med”, 2012, 4(136): p. 136ra68.
7. Weyher J.L., Dziecielewski I., Kamińska A. et al., *GaN-based platforms with Au-Ag alloyed metal layer for surface enhanced Raman scattering*, „J. Appl. Phys”, 112, 114327 (2012)
8. Kelkar S.S., Reineke T.M., *Theranostics: combining imaging and therapy*, „Bioconjug Chem”, 2011 Oct. 19;22(10):1879-903. doi: 10.1021/bc200151q. Epub 2011 Aug 29.
9. Sikora B., Fronc K., Kamińska I. et al., *Transport of NaYF₄:Er³⁺, Yb³⁺ upconverting nanoparticles into HeLa cells*, „Nanotechnology”, 2013 Jun. 14;24(23): 235702.



Rozdział 3

Diagnostyka genetyczna niedziedzicznych chorób nowotworowych – prawa pacjenta i obowiązki lekarza

prof. dr hab. n. med. Paweł Krawczyk

Pracownia Immunologii i Genetyki Katedry i Kliniki Pneumonologii,
Onkologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Onkologia jest dziedziną medycyny, w której doszło w ostatnich latach do powstania zupełnie nowych rozwiązań diagnostycznych i terapeutycznych. Było to możliwe dzięki zrozumieniu genetycznej różnorodności mechanizmów rządzących powstawaniem chorób nowotworowych. Szczegółowa wiedza o genetycznym podłożu nowotworów umożliwiła wprowadzenie pod koniec XX wieku nowych metod terapii ukierunkowanych molekularnie oraz immunoterapii. Wymienione metody leczenia są skuteczne jedynie u niektórych chorych.

Wiemy coraz więcej o nieprawidłowościach genetycznych występujących w komórkach nowotworowych, których obecność warunkuje efekt poszczególnych rodzajów terapii. W celu właściwej kwalifikacji do leczenia, niezbędne stało się opracowanie testów

genetycznych, za pomocą których można zbadać zaburzenia genetyczne. Dostęp chorych do badań genetycznych zwiększył się do niespotykanej wcześniej skali, stwarzając wiele nowych problemów natury metodologicznej, prawnej i etycznej.

3.1

Badania genetyczne w celu kwalifikacji do terapii u chorych na nowotwory

Według danych Krajowego Rejestru Nowotworów, w Polsce w 2013 r. choroby nowotworowe zdiagnozowano u 156 587 osób, a z ich powodu zmarło 94 125 pacjentów. Liczbę wszystkich chorych na nowotwory w Polsce szacuje się na poziomie 360 tys. osób, co stanowi 1% populacji naszego kraju. Liczba ta szybko wzrosła na przestrzeni ostatnich lat, za co odpowiadają dwa główne zjawiska. Pierwsze związane jest ze wzrostem zapadalności na choroby nowotworowe (od roku 1980 prawie o 50%), którego przyczyną jest przede wszystkim starzenie się społeczeństwa (choroby nowotworowe występują częściej u osób starszych) oraz ekspozycja na karcynogeny dymu tytoniowego i środowiska. Za drugie odpowiada wzrost efektywności leczenia i wydłużenie czasu życia chorych na nowotwory.

Coraz częściej nowotwory traktuje się jako choroby przewlekłe, a pacjenci na przestrzeni kilku lat życia z chorobą nowotworową otrzymują różnorodne i wielokrotne leczenie. Pojawiają się także nowotwory wtórne wywołane wcześniejszym leczeniem przeciwnowotworowym (np. radioterapią).

Za niemal 50% zachorowań na nowotwory u mężczyzn odpowiadają: rak płuca (18,7%), prostaty (15,5%) i jelita grubego (12,2%). Natomiast u kobiet najczęściej rozpoznaje się raka piersi (21,9%), jelita grubego (10,1%) i płuca (8,8%) [1]. W większości są to nowotwory,

które w zaawansowanej postaci i w przypadku istnienia predyspozycji genetycznej, mogą być leczone terapiami ukierunkowanymi molekularnie lub immunoterapią. Oznacza to, że około 40% chorych na nowotwory może w przebiegu swojej choroby wymagać wykonania testu genetycznego w kwalifikacji do leczenia.

Trudno nawet oszacować liczbę koniecznych do wykonania badań genetycznych. Po pierwsze u jednego chorego, po wykluczeniu najczęstszych nieprawidłowości genetycznych, może istnieć konieczność poszukiwania rzadszych zaburzeń i to, być może, na kolejnych etapach leczenia na przestrzeni kilku miesięcy lub lat. Po drugie, oprócz predyspozycji genetycznej, chorzy muszą spełnić szereg klinicznych kryteriów kwalifikujących ich do terapii (np. muszą być w dobrym stanie sprawności) i niektórzy pacjenci niespełniający takich kryteriów, nie będą potrzebować badania genetycznego.

W ciągu roku w Polsce, na podstawie prostych obliczeń i doświadczenia klinicznego, można próbować oszacować liczbę koniecznych do przeprowadzenia testów genetycznych u chorych na nowotwory w kwalifikacji do odpowiedniego rodzaju terapii (przy założeniu dostępności do leczenia takiego jak w innych krajach Unii Europejskiej) na poziomie 30–50 tys. [2].

Jeszcze kilka lat temu nikt nie zdawał sobie sprawy z powstawania nowego celu dla badania genetycznego. Dotychczas badania genetyczne wykonywane były tylko w stosunkowo wąskiej grupie pacjentów z chorobami uwarunkowanymi dziedzicznie i wśród członków ich rodzin. Badania te są bardzo różnorodne w zależności od rodzaju schorzenia i wymagają zastosowania różnorodnych metod oraz różnych materiałów biologicznych (choć najczęściej takim materiałem jest krew obwodowa). Wynik takiego badania niesie ze sobą poważne konsekwencje dla pacjenta i całej jego rodziny i w związku z tym wymaga wysokospecjalistycznej porady genetycznej. Dotyczy to także diagnostyki nowotworów uwarunkowanych dziedzicznie, takich jak dziedziczny rak piersi i jajnika, dziedziczny

– nie związany z polipowatością – rak jelita grubego, siatkówczak itp. Natomiast w przypadku najczęstszych nowotworów sporadycznych (niedziedzicznych), diagnostyka genetyczna przeprowadzana jest w celu wykrycia nieprawidłowości somatycznych (nabytych), warunkujących skuteczność leczenia i występujących tylko w komórkach nowotworowych. Materiałem do takiej diagnostyki jest w związku z tym tkanka nowotworowa najczęściej zarchiwizowana w postaci blozków parafinowych, które powstają w zakładach patomorfologii podczas rutynowej diagnostyki patomorfologicznej. Ponadto, z uwagi na dużą liczbę tego rodzaju badań, zostały stworzone jednolite metody przeznaczone do diagnostyki *in vitro* (ang. *in vitro diagnostic*, IVD) najczęściej występujących, somatycznych nieprawidłowości genetycznych. Z uwagi na zazwyczaj szybką progresję nieleczzonej i najczęściej zaawansowanej choroby nowotworowej istnieje konieczność niezwłocznego wykonania badania genetycznego. Chory nie powinien czekać na właściwą kwalifikację do leczenia dłużej niż 2 tygodnie. Mimo odmienności pomiędzy badaniami genetycznymi wykonywanymi w celu diagnostyki zmian dziedzicznych i niedziedzicznych, osoby zlecające i wykonujące badania genetyczne nadal obowiązują szczególne poszanowanie praw pacjenta i ochrona jego danych osobowych [2, 3, 4].

3.2

Obowiązujące i planowane akty prawne dotyczące prowadzenia badań genetycznych w Polsce

Badania genetyczne prowadzone zwłaszcza w celu diagnostyki chorób dziedzicznych, oprócz oczywistych korzyści w postaci precyzji rozpoznania choroby i doboru leczenia oraz postępowania profilaktycznego, niosą dla pacjentów i ich rodzin wiele zagrożeń. Przede wszystkim należy wspomnieć o możliwości naruszenia

godności ludzkiej i zagrożenia dla szczególnie wrażliwych danych osobowych. Wykorzystanie wyników badań genetycznych – poza wskazaniami, dla których były wykonane – może spowodować odmowę zatrudnienia, zawarcia umowy ubezpieczeniowej czy dyskryminację społeczną i strach przed nieznaną chorobą u osób będących nosicielami pewnych zmian genetycznych. Dlatego na świecie obowiązuje szereg międzynarodowych aktów prawnych, mających na celu ochronę praw człowieka. Ogólnych zasad prowadzenia badań genetycznych dotyczą deklaracje UNESCO: Powszechna Deklaracja o Genomie Ludzkim i Prawach Człowieka oraz Powszechna Deklaracja w sprawie Bioetyki i Praw Człowieka. Obie te deklaracje wywodzą się z – i poszerzają je – podstawowych aktów prawnych, takich jak Powszechna Deklaracja Praw Człowieka z 10 grudnia 1948 roku [7]. Ponadto w wysokorozwiniętych krajach Europy Zachodniej obowiązują ustawy: Gendiagnostikgesetz w Niemczech (od 1 lutego 2010 roku) [8], Bundesgesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen (GUMG) w Szwajcarii [9] oraz Gentechnikgesetz (GTG) w Austrii [10], które regulują zasady wykonywania badań genetycznych dla celów zdrowotnych, badań naukowych oraz dla wymiaru sprawiedliwości.

W Polsce brakuje ustawy regulującej zasady prowadzenia badań genetycznych dla celów zdrowotnych, a co za tym idzie istnieje zagrożenie dla ich wiarygodności i bezpieczeństwa stosowania. Normy prawne dotyczące badań genetycznych rozsiiane są po wielu aktach prawnych.

Najwięcej regulacji znajduje się w nowelizacji Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 19 sierpnia 2015 r. w sprawie standardów jakości dla laboratoriów w zakresie czynności laboratoryjnej genetyki medycznej oraz laboratoryjnej interpretacji i autoryzacji wyniku badań. Rozporządzenie to zostało uzupełnione o punkt dotyczący standardów w zakresie wykonywania badań genetycznych dla celów zdrowotnych w niehematologicznych nowotworach nabytych [4]. Kilka ogólnych zapisów, które mogą dotyczyć badań

genetycznych znajduje się również w ustawach: o zawodach lekarza i lekarza dentysty, o pobieraniu, przechowywaniu i przetwarzaniu komórek i tkanek (tzw. ustawa transplantacyjna), o diagnostyce laboratoryjnej, o ochronie danych osobowych, o systemie informacji w ochronie zdrowia i innych [11, 12, 13, 14, 15]. Natomiast ustawa regulująca badania genetyczne w Polsce pozostaje na etapie przygotowywania jej projektu. Podstawą miał być raport pt. „Testy genetyczne dla celów zdrowotnych” przygotowany przez Zespół do Spraw Molekularnych Badań Genetycznych i Biobankowania przy Ministrze Nauki i Szkolnictwa Wyższego kierowany przez prof. Michała Witta [16].

Punktem odniesienia dla wymienionego raportu jest Konwencja Rady Europy „O ochronie praw człowieka i godności istoty ludzkiej w dziedzinie zastosowania biologii i medycyny” (tzw. Europejska Konwencja Bioetyczna) zawarta w Oviedo 4 kwietnia 1997 roku (Polska nadal nie ratyfikowała tej konwencji). Autorzy raportu wyraźnie podkreślają dwa nienaruszalne zakazy, które zapisane są w konwencji: zakaz uprzedmiotawiania jednostki oraz zakaz dyskryminacji – wynikające z zasady poszanowania godności ludzkiej [17]. Jednak, jeśli doszłoby do kontynuacji prac nad ustawą dotyczącą diagnostyki genetycznej, to raport pt. „Testy genetyczne dla celów zdrowotnych”, który powstał w 2012 roku, nie uwzględnia zupełnie problematyki testów genetycznych prowadzonych w celu wykrycia zmian somatycznych u chorych na nowotwory nabyte kwalifikowanych do różnych metod leczenia ukierunkowanego molekularnie [16].

3.3

Problemy diagnostyki genetycznej nowotworów niedziedzicznych w Polsce

Pewne zamieszanie, w związku z pojawieniem się badań genetycznych w kwalifikacji chorych na nowotwory niedziedziczne do terapii ukierunkowanych molekularnie, istnieje w obowiązujących wcześniej podstawowych definicjach testów genetycznych wykonywanych dla celów zdrowotnych.

Według klasycznych definicji, genetyczne badania diagnostyczne wykonywane są w celu wykrycia choroby, ustalenia predyspozycji do niej i ustalenia wrażliwości na działanie leków lub ich toksyczności. Natomiast predykcyjne badania genetyczne są wykonywane w celu identyfikacji choroby, która może wystąpić w przyszłości lub choroby uwarunkowanej genetycznie u potomstwa. W onkologii pojawiło się natomiast pojęcie genetycznych badań i czynników predykcyjnych, które są przydatne w kwalifikacji do nowoczesnych metod leczenia. Czynniki predykcyjne w onkologii to czynniki, które warunkują skuteczność niektórych metod leczenia przeciwnowotworowego.

Do najczęściej wykonywanych w onkologii testów genetycznych należą: analiza DNA pod kątem możliwości wykrycia mutacji (substytucji, małych delecji czy insercji), analiza aberracji chromosomów (powielenia liczby chromosomów i genów, rearanżacji genowych – powstania genów fuzyjnych) oraz analiza ekspresji białek powstałych na matrycy nieprawidłowych genów.

Najczęściej w Polsce przeprowadza się obecnie badania mutacji w genie *EGFR* u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca w kwalifikacji do terapii inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR (około 5 tys. chorych rocznie), badania ekspresji HER2 i powielenia liczby kopii genu *HER2* u chorych na raka piersi w kwalifikacji do terapii przeciwciałami anty-HER2 i inhibitorami kinazy tyrozynowej HER2 (większość kobiet chorych na ten nowotwór), badania mutacji w genach *KRAS* i *NRAS* u chorych na raka jelita

grubego i odbytnicy w kwalifikacji do terapii przeciwciałami anti-EGFR (około 3000 chorych rocznie) oraz mutacji w genie *BRAF* u chorych na czerniaka w kwalifikacji do terapii inhibitorami kinazy *BRAF* i *MEK* (około 800 chorych rocznie) [2, 18, 19]. Ponadto, z uwagi na brak polskiej refundacji nowych leków zarejestrowanych w Unii Europejskiej (UE) [20], w Polsce w odróżnieniu od innych krajów UE, nie wykonuje się wielu badań genetycznych i immunologicznych u chorych na nowotwory (np. u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca nie bada się rearanżacji genu *ALK* czy ekspresji PD-L1) [2]. Właściwa diagnostyka tych nieprawidłowości genetycznych ekonomicznie i personalizuje leczenie przeciwnowotworowe. Chory otrzymuje najskuteczniejsze leczenie, zmniejsza się ryzyko działań niepożądanych, poprawia się stan chorego, przez co nie wymaga on dodatkowej opieki, a nawet może wrócić do pracy. Błędny wynik testów genetycznych powoduje z kolei zastosowanie nieprawidłowego i kosztownego leczenia, które nie przyniesie skutków, odroczy zastosowanie innej terapii i może spowodować niepotrzebne działania niepożądane.

Jednym z najpilniejszych do rozwiązania problemów, wpływających na wiarygodność wyników badań genetycznych, jest brak rzeczywistej kontroli nad jakością pracy laboratoriów genetycznych w Polsce. W myśl ustawy o działalności leczniczej [21] oraz o systemie informacji w ochronie zdrowia [15] wszystkie laboratoria muszą mieć pozwolenie na prowadzenie działalności leczniczej wydane przez wydziały zdrowia odpowiednich urzędów wojewódzkich oraz zostać zewidencjonowane w Rejestrze Podmiotów Wykonujących Działalność Leczniczą (RPWDL). Ponadto, wg ustawy o diagnostyce laboratoryjnej [13], laboratoria muszą spełniać odpowiednie wymogi lokalowe, sprzętowe i przede wszystkim personalne (kierownik z odpowiednią specjalizacją) oraz zostać wpisane do ewidencji medycznych laboratoriów diagnostycznych prowadzonej przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych. Obie te procedury odbywają się na zasadzie wypełnienia odpowiednich dokumentów, a jedyną opinią,

która wymagana jest do umieszczania laboratorium w RPWDL jest protokół z kontroli przeprowadzanej przez wojewódzką stację sanitarno-epidemiologiczną.

Istnieją jednak laboratoria, które powstały na bazie istniejących szpitali czy uniwersyteckich zakładów teoretycznych i nigdy nie przeszły kontroli sanitarno-epidemiologicznej. Jednak zupełnie niedopuszczalne jest, co czasami zdarza się jeszcze w Polsce, że badaniami genetycznymi zajmują się laboratoria niespełniające wymienionych powyżej wymagań.

W raporcie prof. Witta zaproponowano, żeby jednym z podstawowych instrumentów zapewnienia jakości badań genetycznych było wprowadzenie systemu akredytacji laboratoriów udzielanej przez ministra zdrowia [16]. W Polsce nie ma jednak genetycznych laboratoriów referencyjnych (zajmujących się genetyką człowieka), chyba że za takie uznamy laboratoria działające w ramach ośrodków klinicznych o najwyższym poziomie referencyjności. Laboratoria te nie byłyby jednak bezstronne, bo same prowadzą diagnostykę genetyczną. W związku z tym nie ma narzędzia, które umożliwiłoby ministrowi zdrowia prowadzenie systemu akredytacji laboratoriów.

Z drugiej jednak strony większość diagnostycznych laboratoriów genetycznych prowadzi wewnętrzne procedury, które potwierdzają, że badania wykonywane są zgodnie z odpowiednimi standardami naukowymi, technicznymi i etycznymi. Według Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 19 sierpnia 2015 roku w sprawie standardów jakości dla laboratoriów genetycznych [4], polskie laboratoria zajmujące się diagnostyką somatycznych nieprawidłowości genetycznych w nowotworach nabytych, prowadzą wewnętrzną kontrolę jakości, przystępują do zewnętrznych programów kontroli jakości (organizowanych między innymi przez European Society of Pathology czy European Molecular Genetics Quality Network), poddają się certyfikacji prowadzonej przez Polskie Towarzystwo Genetyki Człowieka oraz zatrudniają specjalistów laboratoryjnej genetyki medycznej i genetyki klinicznej, a także posługują się aparaturą laboratoryj-

ną i testami genetycznymi przeznaczonymi do diagnostyki *in vitro* (nie ma możliwości prowadzenia diagnostyki tzw. metodami *home made*).

Dla jakości diagnostyki ma również znaczenie doświadczenie laboratorium w prowadzeniu badań genetycznych – okres działania oraz liczba testów każdego rodzaju wykonywanych w laboratorium [3, 4]. Medyczne laboratoria diagnostyczne mają także możliwość przystąpienia do procesu akredytacji prowadzonego przez Polskie Centrum Akredytacji w zakresie norm ISO: PN-EN ISO 17025 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących” oraz PN-EN ISO 15189 „Laboratoria medyczne – Szczegółowe wymagania dotyczące jakości i kompetencji”. Jednak uzyskanie certyfikatów świadczy o odpowiednich standardach pracy laboratorium oraz prawidłowości procedur diagnostycznych, ale nie odnosi się konkretnie do sposobu prowadzenia badań genetycznych [22].

Oczywista jest konieczność zlecania badania genetycznego przez lekarza diagnozującego i leczącego pacjenta (pisemne skierowanie na badanie). O ile jednak w przypadku chorób dziedzicznych zlecenia badania i interpretacji jego wyniku powinien dokonywać lekarz ze specjalizacją z genetyki klinicznej, to w przypadku diagnostyki zmian somatycznych [16] w kwalifikacji do terapii chorych na nowotwory, lista specjalizacji powinna zostać rozszerzona [4, 16]. Przesłanek ku temu dostarcza fakt wykorzystania do badań genetycznych testów zarejestrowanych do diagnostyki *in vitro* (a więc diagnozujących konkretne nieprawidłowości genetyczne) oraz konieczność szybkiej kwalifikacji do leczenia.

W chwili obecnej badania genetyczne u chorych na nie-dziedziczne nowotwory zlecają najczęściej onkolodzy, patomorfologodzy, chirurdzy, pulmonologodzy (w przypadku raka płuca), ginekologodzy, gastroenterologodzy i inni lekarze, których specjalizacja umożliwia leczenie chorób nowotworowych. Nie ma zazwyczaj problemów w interpretacji wyniku badania genetycznego, gdyż

możliwość kwalifikacji do leczenia chorych z określonymi zaburzeniami genetycznymi wynika z charakterystyki produktu leczniczego i jest zapisana w programach lekowych NFZ, w ramach których refundowane jest leczenie większością terapii ukierunkowanych molekularnie [19]. Oczywiście jest to również zależne od wiarygodności wyniku, na którą wpływa jakość pracy laboratorium oraz prawidłowe opisanie wyniku [4]. W procesie diagnostycznym niezwykle ważny jest udział patomorfologa, który określa lokalizację i odsetek komórek w badanym materiale guza nowotworowego [3].

Natomiast nie jest właściwe wykonanie badań genetycznych na własną rękę przez chorego, zwłaszcza za pośrednictwem zagranicznych firm reklamujących się wyłącznie w Internecie oraz polskich firm zlecających całość testów genetycznych zagranicznym podwykonawcom.

W chwili obecnej istnieje możliwość wykrycia setek zmian somatycznych w komórkach nowotworowych, np. techniką sekwencjonowania następnej generacji (ang. *next generation sequencing*, NGS). Wysokie koszty takich badań ponosi pacjent. Jednak wykryte w ten sposób nieprawidłowości genetyczne rzadko mają implikacje kliniczne, a ich znaczenie nie jest interpretowane przez właściwego lekarza. Dzieje się tak między innymi dlatego, że w Polsce nie ma obowiązku posiadania skierowania lekarskiego na „prywatny” test genetyczny.

W związku z tym, wynik nie służy kwalifikacji do nowoczesnych metod leczenia i zazwyczaj przedstawia niewielką wartość lub jest nawet szkodliwy dla pacjenta, w świadomości którego wytwarza się poczucie zagrożenia chorobą genetyczną. Ta uwaga nie dotyczy badań klinicznych, w których chory ma dostęp do nowoczesnych terapii ukierunkowanych molekularnie po spełnieniu genetycznych kryteriów kwalifikacji do leczenia. Pacjenta do leczenia w ramach badań klinicznych kwalifikuje lekarz na podstawie dobrowolnej zgody pacjenta i wyników badań przeprowadzonych w centralnym laboratorium firm farmaceutycznych produkujących badany preparat.

Zabezpieczeniu praw pacjenta służy jego pisemna zgoda na przeprowadzenie badań diagnostycznych oraz objęcie leczeniem, uzyskiwana po poinformowaniu chorego przez lekarza o tych procedurach. Zgoda taka zabezpiecza podstawowe dobra pacjenta i zawodowe lekarza. W przypadku badań genetycznych chorób dziedzicznych lekarz powinien uzyskać od chorego zgodę odrębną od zgód na inne procedury diagnostyczno-terapeutyczne. Obszerna zgoda na badania genetyczne (cel i rodzaj badania, znaczenie wyników badania itp.) powinna wraz z materiałem pobranym w celu wykonania badań genetycznych trafić do laboratorium prowadzącego testy genetyczne dla celów zdrowotnych. Takie obostrzenia prawne związane są z olbrzymimi konsekwencjami wyniku badania genetycznego dla pacjenta i członków jego rodziny [4, 16]. W przypadku diagnostyki genetycznej niedziedzicznych nowotworów, w myśl zapisów Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 19 sierpnia 2015 roku w sprawie standardów jakości dla laboratoriów genetycznych, zgoda na badanie genetyczne powinna zostać uzyskana przez lekarza diagnozującego chorego i pozostać w jego dokumentacji szpitalnej lub poradnianej wraz ze zgodami na przeprowadzenie innych procedur medycznych. Taki zapis ma uprościć i przyspieszyć wykonanie badania genetycznego (skrócić czas oczekiwania chorego na rozpoczęcie właściwego leczenia) [3, 4]. W przypadku badania somatycznych zaburzeń genetycznych w celu kwalifikacji do leczenia, materiał zazwyczaj nie jest pobierany specjalnie w celu prowadzenia diagnostyki genetycznej.

Materiał ten jest uzyskiwany w trakcie terapeutycznych zabiegów chirurgicznych lub w celu przeprowadzenia diagnostyki patomorfologicznej. Dopiero później, nieraz wiele miesięcy od pobrania materiału, może pojawić się konieczność przeprowadzenia badania genetycznego. Dlatego zgoda chorego na tego rodzaju badania genetyczne nie może zazwyczaj obejmować pobierania materiału. W związku z tym zgoda powinna dotyczyć jedynie zakresu wykonanych badań i ich celu, jednak z uwagi na pojawiające się nowe

terapię ukierunkowaną molekularnie, zakres ten powinien być szeroki i obejmować badania genetyczne wszystkich nieprawidłowości somatycznych, które wykonywane są w kwalifikacji do dostępnych terapii ukierunkowanych molekularnie.

W treści zgody powinna znaleźć się informacja dotycząca planowanego użycia materiału genetycznego. W przypadku badań genetycznych chorób dziedzicznych zwykle rekomenduje się zniszczenie materiału genetycznego po wykonaniu badań, na które pacjent wyraził zgodę lub ewentualnie zwrot niewykorzystanych próbek. W przypadku diagnostyki zmian somatycznych w nowotworach nabytych, może istnieć konieczność wykonania kolejnych badań genetycznych w kwalifikacji do pojawiających się nowych terapii (nieraz na przestrzeni kilku lat). Trzeba pamiętać, że materiał tkankowy lub cytologiczny i uzyskany z niego materiał genetyczny jest często unikatowy (np. uzyskany w drodze biopsji trudno dostępnych zmian nowotworowych), a powtórne jego pobranie może nie być możliwe.

Zniszczenie materiału genetycznego w takim przypadku może przekreślić szansę chorego na otrzymanie nowoczesnego leczenia. Bloczki parafinowe z materiałem tkankowym lub cytologicznym powinny zostać zwrócone do ośrodków zlecających badanie genetyczne, które ten materiał wytworzyły. Materiał ten należy traktować jako dokumentację medyczną i przechowywać celem przeprowadzenia ewentualnej dalszej diagnostyki patomorfologicznej [23]. Natomiast materiał genetyczny powinien zostać odpowiednio zabezpieczony (biobank) i niemożliwe powinno być wykonanie w nim badań, na które pacjent nie wyraził zgody (zwłaszcza badań zmian dziedzicznych, które mogą ujawnić zagrożenia dla chorego i jego krewnych). Materiał genetyczny powinien być traktowany jako dokumentacja medyczna.

Konieczne jest jednak opracowanie przepisów, dotyczących zasad i bezpieczeństwa (w tym obejmujących ochronę danych osobowych) przechowywania materiału genetycznego uzyskanego dla celów diagnostyki nowotworów niedziedzicznych.

3.4

Dostępność do badań genetycznych w nowotworach niedziedzicznych i ich finansowanie w Polsce

W Polsce dostęp do badań genetycznych wyprzedza często refundację niektórych leków przeciwnowotworowych. Chociaż na świecie standardem stało się badanie licznych nieprawidłowości genetycznych u chorych na nowotwory niedziedziczne, to polscy lekarze i laboratoria starają się sztucznie ograniczyć rodzaj wykonywanych badań, tylko do tych, które umożliwią kwalifikację pacjenta do refundowanych nowoczesnych terapii. Z drugiej strony, niektóre badania genetyczne wykonywane są w trakcie kwalifikacji chorych do badań klinicznych testujących nowe terapie. Te zjawiska generują dwa bardzo istotne problemy etyczne. Polscy lekarze zakładają, że pacjenta nie stać na bardzo drogie leczenie nierefundowane w naszym kraju i nie zlecają niektórych badań genetycznych. Nawet jednak, gdyby takie badanie zostało zlecone, to większość laboratoriów nie ma funduszy na ich przeprowadzenie, ponieważ koncerny farmaceutyczne nie są zainteresowane finansowaniem badań kwalifikujących chorych do nierefundowanego leczenia. Z drugiej strony istnieją w Polsce chorzy z predyspozycją genetyczną (stwierdzoną w badaniu klinicznym), kwalifikującą ich do terapii ukierunkowanej molekularnie i w pełni świadomi, że taką predyspozycję mają, których rzeczywiście nie stać na rozpoczęcie drogiego leczenia onkologicznego nierefundowanego w Polsce. Dylemat dotyczy zarówno zakresu zlecanych badań, jak i zakresu informowania chorych o wyniku badania genetycznego, jeśli zostało ono wykonane według standardów obowiązujących w wysokorozwiniętych krajach UE ze znacznie większą dostępnością do leczenia [20].

W Polsce badania genetyczne w niedziedzicznych chorobach nowotworowych wykonywane w celu kwalifikacji do leczenia, zazwyczaj nie są finansowane ze środków publicznych i nie są

wyszczególnione jako odrębna procedura medyczna. Laboratoria genetyczne mogą liczyć na pokrycie części kosztów badań, jeśli podpiszą z NFZ umowę w rodzaju świadczenia zdrowotne kontraktowane odrębnie (SOK): kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych. Tego typu kontrakty na prowadzenie diagnostyki genetycznej ma większość polskich centrów onkologii, jednak wysokość finansowania jest bardzo zróżnicowana i zazwyczaj niska. Ponadto centra onkologii nie zawsze mają własne laboratoria genetyczne, co zmusza je do zawierania umów podwykonawstwa z zewnętrznymi laboratoriami genetycznymi. Umowy na kontraktowanie tych świadczeń są stale aneksowane przez NFZ, w związku z czym nowe laboratoria genetyczne zajmujące się omawianym problemem (a takich jest kilka z uwagi na fakt, że terapie ukierunkowane molekularnie upowszechniają się dopiero od kilku lat), nie mogą liczyć na finansowanie badań. Dlatego niewielki odsetek tej kategorii badań finansowany jest w wyżej wymieniony sposób [2, 24]. Niektóre centra onkologii stać na finansowanie badań genetycznych ze środków przeznaczonych na rozwój i badania naukowe. Mniejsze ośrodki onkologiczne pozostają jednak bez dostępu do tego rodzaju diagnostyki [2].

Diagnostyka genetyczna w kwalifikacji do terapii ukierunkowanych molekularnie objętych programami lekowymi powinna być finansowana w ramach ryczałtów za diagnostykę prowadzoną w tych programach. Tymczasem, w dokumentach NFZ określających warunki zawierania i realizacji umów w rodzaju: leczenie szpitalne w zakresie programy zdrowotne (lekowe), zdarza się, że nie ma wymienionych procedur badań genetycznych. Jeśli nawet badanie genetyczne jest wyszczególnione wśród tych procedur, to ryczałt za diagnostykę wypłacany jest tylko w przypadku zakwalifikowania chorego do programu lekowego. W niektórych nowotworach częstość występowania zaburzeń genetycznych kwalifikujących do leczenia jest niewielka i tylko u niektórych chorych możliwa byłaby refundacja badań genetycznych. Kwota ta byłaby wielokrotnie zbyt

niska dla przeprowadzenia wiarygodnej diagnostyki genetycznej z wykorzystaniem metod IVD w całej populacji chorych [2, 19].

Istnieje także potencjalna możliwość finansowania badań genetycznych w ramach ryczału za świadczenia diagnostyki onkologicznej wykonywane u pacjentów z kartą diagnostyki i leczenia onkologicznego (DiLO). Zarządzenie ministra zdrowia dotyczące Pakietu Onkologicznego wprowadziło katalog diagnostycznych pakietów onkologicznych, co oznacza, że pełnoprofilowe badania diagnostyczne będą rozliczane na podstawie ryczału w zależności od rodzaju diagnozowanego nowotworu złośliwego i etapu diagnostycznego (wstępny lub pogłębiony). Rozliczenie tych pakietów wymaga od świadczeniodawcy wykonania pełnej diagnostyki wynikającej ze wskazań klinicznych i obowiązujących standardów oraz wytycznych towarzystw naukowych, odnoszących się do postępowania w tym zakresie. Obejmuje więc także badania genetyczne. W związku z tym, badania te dla pacjentów z kartą DiLO nie powinny być finansowane odrębnie przez Narodowy Fundusz Zdrowia. Niestety, zawarte w omawianym dokumencie istotne procedury medyczne, nie obejmują badań genetycznych koniecznych do wykonania u chorych na raka płuca, raka jelita grubego i odbytnicy czy czerniaka. W dokumencie pojawia się jedynie wzmianka dotycząca badań genetycznych wykonywanych u chorych na raka piersi (diagnostyka nieprawidłowości genu HER2). Podobnie jak w przypadku prowadzenia diagnostyki genetycznej w ramach ryczału za diagnostykę w programach lekowych, tak i w sytuacji wykonywania tej diagnostyki w ramach ryczału za świadczenia diagnostyki onkologicznej wykonywane u pacjentów z kartą DiLO, fundusze przeznaczone na ten cel mogą okazać się niewystarczające.

Ryczałt przewiduje bowiem stałą kwotę przypadającą na pacjenta za wykonanie badań diagnostycznych. Jeśli w ramach diagnostyki zostanie wykonanych dużo kosztownych badań, to nie wystarczy środków na wykonanie badań genetycznych [2, 25].

W związku z chaosem finansowym i prawnym dotyczącym diagnostyki genetycznej, większość badań genetycznych w kwalifikacji chorych na nowotwory do nowoczesnych metod terapii nie jest finansowana ze środków publicznych, a w diagnostyce genetycznej partycypują koncerny farmaceutyczne zainteresowane sprzedażą leków ukierunkowanych molekularnie. Taki sposób finansowania zapewnia polskim chorym dostęp do nowoczesnych metod leczenia oraz umożliwia laboratoriom genetycznym wykorzystanie w diagnostyce wiarygodnej aparatury i certyfikowanych metod IVD. Bez udziału koncernów farmaceutycznych w tym procesie prawdopodobnie niemożliwe byłoby zastosowanie nowoczesnego leczenia u polskich chorych na nowotwory. Jednak sposób finansowania diagnostyki genetycznej nie jest usankcjonowany umowami pomiędzy Ministerstwem Zdrowia, NFZ i koncernami farmaceutycznymi. Powoduje to kolejny dylemat etyczny.

Dotyczy on kwalifikacji do leczenia chorych, u których jest refundowanych kilka leków w jednym wskazaniu. Wynik badania genetycznego mógłby w takim przypadku sugerować wybór preparatu. Niedopuszczalne jest, aby na wyniku znajdowała się informacja, który z koncernów farmaceutycznych pokrył koszty diagnostyki. Niedopuszczalna jest także sugestia, że finansowanie badań genetycznych pociąga za sobą konieczność leczenia wybranym preparatem. Za zaistniałą sytuację odpowiedzialne jest Ministerstwo Zdrowia, które nie przewidziało gwałtownego postępu onkologicznych terapii ukierunkowanych molekularnie oraz, w konsekwencji, rozwoju badań genetycznych u chorych na nowotwory, nie zapewniając ich finansowania z budżetu państwa. Należy podkreślić, że wybór rodzaju leczenia powinien być zawsze dokonany przez lekarza na podstawie jego najlepszej wiedzy medycznej.

3.5

Podsumowanie

Chorzy na nowotwory nabyte mają prawo do wiarygodnej i szybkiej diagnostyki genetycznej w kwalifikacji do najnowocześniejszych terapii przeciwnowotworowych. Mają jednocześnie prawo do poszanowania swoich praw pacjenta i jednostki ludzkiej. Testy genetyczne w nowotworach nabytych należą do najczęstszych badań genetycznych wykonywanych w medycynie i lekarze prowadzący terapię chorych na nowotwory mają obowiązek zlecania takich badań według swojej wiedzy, kierując się dobrem chorego. Dostępność tego rodzaju testów jest w Polsce dość duża, ale wciąż ogranicza ją lub utrudnia szereg zjawisk. Do najważniejszych z nich należy brak jednolitych uregulowań prawnych dotyczących zasad prowadzenia testów genetycznych dla celów zdrowotnych, brak nadzoru nad laboratoriami prowadzącymi diagnostykę genetyczną, brak finansowania testów genetycznych z pieniędzy publicznych. Nie ma jednak odwrotu od personalizacji metod terapii przeciwnowotworowych, którą przeprowadza się na podstawie profilu molekularnego. Dlatego należy mieć nadzieję, że dynamiczny rozwój onkologii i terapii ukierunkowanych molekularnie wymusi w niedługim czasie unormowanie tej sytuacji.

Piśmiennictwo

1. Krajowy Rejestr Nowotworów. <http://onkologia.org.pl/>.
2. Krawczyk P., *Oczekiwania wobec systemu diagnostyki genetycznej w Polsce*, „Onkol Prakt Klin”, 2015; 11 (wyd. specjalne): 10-14.
3. Krawczyk P., Chorostowska-Wynimko J., Dziadziuszko R. i wsp., *Methodological recommendations for the diagnostics of EGFR gene mutations and ALK gene rearrangement in the selection of non-small-cell lung cancer patients to molecularly targeted therapies*, „Pneumonol Alergol Pol”, 2014; 82(5):437-444.
4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 sierpnia 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych. Dz. U. z 2015 r. poz. 1372. <http://www2.mz.gov.pl/>.
5. Powszechna Deklaracja o Genomie Ludzkim i Prawach Człowieka. <http://libr.sejm.gov.pl/>
6. Powszechna Deklaracja w sprawie Bioetyki i Praw Człowieka. <http://libr.sejm.gov.pl/>
7. Powszechna Deklaracja Praw Człowieka. <http://libr.sejm.gov.pl/>
8. Gendiagnostikgesetz. Bundesminister für Gesundheit. <http://www.bmg.bund.de/>.
9. Bundesgesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen. Die Bundesversammlung der Schweizerischen Eidgenossenschaft. <https://www.admin.ch/>.
10. Gentechnikgesetz. Bundesministerium für Gesundheit. <http://www.bmg.gv.at/>.
11. Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentysty. Dz. U. z 2015 r., poz. 464.
12. Ustawa o pobieraniu, przechowywaniu i przetwarzaniu komórek i tkanek. Dz. U. z 2005 r. nr 169 poz. 1411 oraz Dz. U. z 2009 r. nr 141, poz. 1149.
13. Ustawa o diagnostyce laboratoryjnej. Dz. U. z 2014 r. poz. 1384.
14. Ustawa o ochronie danych osobowych Dz. U. z 2015 r. poz. 2135.

15. Ustawa o systemie informacji w ochronie zdrowia. Dz. U. z 2015 r. poz. 636, 788, 855, 1066.
16. *Testy genetyczne dla celów zdrowotnych*. Raport Zespołu do Spraw Molekularnych Badań Genetycznych i Biobankowania, Warszawa 2012. <http://www.rynekzdrowia.pl/>.
17. *Konwencja o ochronie praw człowieka i godności istoty ludzkiej w dziedzinie zastosowania biologii i medycyny*. <http://www.coe.int/>.
18. Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2015 r. w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych. Dz. Urz. Min. Zdrow. 2015.23. <http://www.bip.mz.gov.pl/>.
19. Zarządzenie nr 21/2015/DGL Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2015 r. zmieniające zarządzenie w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne w zakresie programu zdrowotne (lekowe) oraz zarządzenie w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju: leczenie szpitalne <https://zip.nfz.gov.pl/GSL/GSL/ProgramyLekowe>.
20. Alivia – Fundacja Onkologiczna Osób Młodych. <http://www.alivia.org.pl/>.
21. Ustawa o działalności leczniczej. Dz. U. z 2014 r. poz. 1626.
22. Polskie Centrum Akredytacji. <https://www.pca.gov.pl>.
23. Wyrok Sądu Najwyższego w imieniu Rzeczypospolitej Polskiej. Sygn. akt V CSK 256/10. <http://www.sn.pl/>.
24. Zarządzenie Nr 88/2013/DSOZ Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia z dnia 18 grudnia 2013 r. w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju świadczenia zdrowotne kontraktowane odrębnie. <http://www.nfz.gov.pl/zarzadzeniaprezesa/zarzadzenia-prezesa-nfz/zarzadzenie-nr-882013dsoz,5849.html>.
25. Załącznik nr 5c do zarządzenia Nr 79/2014/DSOZ Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia z dnia 5 grudnia 2014 r. <http://www2.nfz.gov.pl/zarzadzenia-prezesa/>.



Rozdział 4

Zastosowanie medycyny personalizowanej w onkologii: stan obecny i perspektywy

prof. dr hab. n. med. Jacek Jassem

Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Medycyna personalizowana, nazywana także „precyzyjną medycyną” polega na postępowaniu, w którym zapobieganie, rozpoznawanie i leczenie chorób oparte jest na zmianach w genach i białkach swoistych dla danego pacjenta i jego choroby. Koncepcję tę określa się także jako właściwe postępowanie u właściwego chorego i we właściwym czasie. To indywidualne podejście różni się od tradycyjnego uprawiania medycyny, w którym wszyscy chorzy z podobnym rozpoznaniem otrzymywali podobne, jeśli nie identyczne leczenie. Od dawna wiadomo było, że efekty leczenia i jego toksyczność wykazują w podobnych przypadkach istotne różnice, które nie są związane z cechami klinicznymi czy demograficznymi. Wyjaśnienie tej obserwacji przyniósł rozwój biologii molekularnej i ujawnienie istotnych różnic genetycznych pomiędzy poszczególnymi chorymi z tym samym rozpoznaniem.

Koncepcja personalizowanej medycyny jest młoda, ale jej szybki rozwój budzi duże nadzieje oraz znajduje szeroki oddźwięk społeczny i polityczny. Jego wyrazem jest na przykład ogłoszona w roku 2015 przez prezydenta USA Baracka Obamę „Inicjatywa Precyzyjnej Medycyny” (*Precision Medicine Initiative*) i przekazanie w 2016 roku kwoty 215 milionów dolarów na związane z nią badania. Obecnie podstawą rozwoju nauk medycznych jest ściśle powiązanie badań podstawowych i klinicznych (tzw. medycyna translacyjna, *bench to bedside medicine*), zakładająca szybki przepływ wiedzy z nauk podstawowych do praktyki klinicznej w celu przyspieszenia rozwoju nowych metod profilaktyki, rozpoznawania i leczenia wielu chorób.

4.1

Medycyna personalizowana w onkologii

Nowotwory stanowią w skali świata drugą przyczynę zgonów, a starzenie się społeczeństw powoduje stopniowy wzrost zachorowalności. Liczbę nowych zachorowań na nowotwory w ciągu roku w świecie szacuje się na blisko 13 milionów, a liczbę zgonów na 8 milionów.

Ostatnie dziesięciolecia to okres szeroko zakrojonych i bardzo intensywnych badań nad biologią nowotworów. Od dawna wiadomo było, że powstają one w wyniku wielostopniowego procesu, podczas którego dochodzi do licznych zaburzeń molekularnych prowadzących do utraty kontroli nad wzrostem komórek i ostatecznie rozwoju choroby. Te zaburzenia mogą mieć charakter pobudzenia onkogenów (*gain-of-function*) lub unieczynnienia genów supresorowych (*loss-of-function*).

Te pierwsze mają charakter dominujący, tzn. do uruchomienia związanego z nim procesu wystarczy mutacja w jednym allelu, natomiast drugie są recesywne, tzn. proces jest uruchamiany

w przypadku mutacji w obu allelach. Zmiany w onkogenach i genach supresorowych wykrywa się na poziomie DNA, RNA lub białek, przy użyciu różnych metod analitycznych. Zdecydowana większość tych zmian nie ma wpływu na rozwój nowotworu – są one nazywane „pasażerskimi”, natomiast istotne znaczenie mają mutacje „napędzające” (*driving mutations*). Odróżnienie tych dwu grup zaburzeń w charakteryzujących się znaczną heterogennością komórkach nowotworowych bywa często trudne.

Oprócz poszukiwania nowych form leczenia, wspomniane badania stwarzają również możliwość rozpatrywania poszczególnych zaburzeń genetycznych w powiązaniu z danymi klinicznymi oraz czynnikami zwiększającymi ryzyko rozwoju nowotworów, takimi jak palenie tytoniu, otyłość, środowiskowe czynniki rakotwórcze czy zakażenia wirusowe. Oczekuje się, że pozwoli to opracować nowe strategie zapobiegania i wczesnego wykrywania nowotworów.

Milowymi krokami w poznaniu genetycznych podstaw rozwoju nowotworów było odkrycie w 1953 roku przez Jamesa D. Watsona i Francis Cricka struktury podwójnej helisy DNA, opracowanie w 2003 roku „Projektu Genomu Człowieka” (*Human Genome Project*) oraz rozpoczęte w 2005 roku i nadal realizowane prace nad „Atlasem Genomu Nowotworów” (*Genome Cancer Atlas*). Realizacja tych projektów stała się możliwa dzięki rozwojowi bardzo wydajnych metod sekwencjonowania genów oraz bioinformatycznej analizy uzyskanych w ten sposób danych.

Odkrycia dotyczące roli onkogenów, genów supresorowych, neoangiogenezy i mikrośrodowiska guza, komórek macierzystych, metabolizmu i immunologii doprowadziły do przełomowego postępu w zrozumieniu mechanizmów powstawania i rozwoju nowotworów. Technologie „omiczne”, umożliwiające badanie DNA (genomika), mRNA (transkryptomika), epigenomu (epigenomika), białek (proteomika) i metabolizmu (metabolomika) pozwoliły na lepsze zrozumienie fizjologicznych i patologicznych procesów oraz przeniesienie tej wiedzy do kliniki.

Techniki molekularnego obrazowania zwiększyły możliwości wykrywania nowych celów molekularnych dla leków i pozwoliły lepiej poznać ich mechanizmy działania. Obecnie onkologię uważa się za modelową dziedzinę medycyny w personalizacji leczenia.

Tradycyjne pojmowanie onkologii, w którym poszczególne nowotwory grupowano według ich narządowej lokalizacji, zaawansowania i budowy histologicznej, jest stopniowo uzupełniane, a w pewnych sytuacjach nawet zastępowane podziałem opartym na występowaniu określonych zaburzeń molekularnych. Oczekuje się, że takie indywidualnie „dopasowane” leczenie, uwzględniające obok klinicznych, także molekularne właściwości nowotworu, a oprócz fizjologicznych, również genetyczne cechy chorego, będzie bardziej skuteczne niż tradycyjne strategie terapeutyczne.

4.2

Leki celowane w onkologii

Rozwój indywidualnego podejścia do leczenia nowotworów jest nieodłącznie związany z pojawieniem się na przełomie XX i XXI wieku nowej grupy tzw. leków celowanych, czyli ukierunkowanych na określone „cele molekularne” nowotworu. Są to zaburzenia genetyczne (najczęściej mutacje, translokacje lub zwiększenie liczby kopii genów), które warunkują rozwój nowotworu i jego progresję (zjawisko tzw. uzależnienia – *addiction*), a równocześnie nie występują lub są mniej istotne w zdrowych komórkach organizmu. Dotychczas, dzięki danym zgromadzonym w Atlasie Genomu Nowotworów oraz pracom Międzynarodowego Konsorcjum Genomu Nowotworów (*International Cancer Genomics Consortium*), udało się zidentyfikować takie zmiany w ponad 50 nowotworach i ich liczba szybko rośnie [1].

Działanie tradycyjnej chemioterapii polega na zabijaniu komórek nowotworowych (ale także szybko dzielących się komórek zdrowych)

poprzez uszkodzenie DNA i mechanizmów podziałowych. Z kolei leki celowane (najczęściej są to przeciwciała lub drobnocząsteczkowe substancje) wpływają na specyficzne funkcje sygnałowe komórek nowotworowych, takie jak proliferacja, apoptoza, angiogeneza, metabolizm, migracja czy naciekanie. Zakłada się, że takie uderzenie w „achillesową piętę nowotworu” może być skuteczniejsze i mniej toksyczne od niespecyficznie działającej chemioterapii.

Spektakularnym przykładem skuteczności tej nowej formy leczenia nowotworów okazał się już pierwszy lek celowany – imatynib. Znalazł on zastosowanie w rzadkiej formie mięsaka podścieliska przewodu pokarmowego (*gastrointestinal stromal tumor*, GIST) oraz w przewlekłej białaczce szpikowej z chromosomem Philadelphia (Ph⁺ *BCR/ABL*). W efekcie białaczka ta, wcześniej praktycznie nieuleczalna, stała się przewlekłą chorobą bez postępującego przebiegu.

Zapoczątkowało to gwałtowny rozwój kolejnych terapii celowanych. Szybko okazało się jednak, że wymagają one znacznie bardziej indywidualnego podejścia niż chemioterapia. W odniesieniu do większości tych terapii warunkiem skuteczności jest bowiem określenie molekularnego „profilu” albo „portretu” nowotworu, czyli specyficznych cech w jego genomie.

Badanie molekularnych cech nowotworów jest wielkim wyzwaniem, ponieważ bioinformatycznej analizie trzeba poddać ogromną liczbę danych (tzw. *big data analysis*). Niektóre zaburzenia występują niezmiernie rzadko, wykrycie innych wymaga bardzo zaawansowanych i kosztownych metod diagnostycznych [2]. Nowotwory mają heterogenną naturę, co powoduje, że w obrębie jednego guza lub poszczególnych ognisk nowotworu mogą występować znaczne genotypowe różnice. Spośród wielu wykrywanych mutacji tylko niektóre związane są z rozwojem i progresją nowotworu (tzw. *actionable mutations*), a spośród nich tylko część może być przedmiotem celowanego leczenia (tzw. *druggable mutations*). Dobór chorych do leczenia celowanego wymaga opracowania wiarygodnego „znacznika diagnostycznego” (biomarkera), pozwalającego zidentyfikować tę

zmianę i tym samym określić wrażliwość (lub oporność) nowotworu na dany lek. Niejednokrotnie w tym samym nowotworze wykrywanych jest kilka celów molekularnych, lecz kojarzenie leków celowanych jest często niemożliwe z powodu nadmiernej toksyczności [3]. W takiej sytuacji konieczne bywa uszeregowanie potencjalnego znaczenia znalezionych zaburzeń. Decydujące znaczenie ma hierarchia szlaków sygnałowych (do szczególnie istotnych należą np. szlaki kinaz tyrozynowych lub cyklu komórkowego), a następnie – kolejno – bezpośredni lub pośredni efekt danego zaburzenia, aktywacja onkogenów (w porównaniu do mniej istotnego unieczynienia genów supresorowych), a w przypadku gdy zaburzenia dotyczą większej liczby onkogenów – częstość ich występowania, liczba kopii genu i stopień wiarygodności dostępnych informacji [4].

W wielu nowotworach nie udało się dotychczas zidentyfikować odpowiednich terapeutycznych celów molekularnych, a w innych – mimo ich zidentyfikowania – nie opracowano jeszcze odpowiadających im leków celowanych. Droga od odkrycia naukowego do jego zastosowania w leczeniu nowotworów bywa długa i żmudna (określana jako *Valley of Death*). Istotną trudnością bywa także uzyskanie tkanek guza do analizy molekularnej. Dotyczy to zwłaszcza sytuacji, kiedy konieczne jest wykonanie biopsji ogniska przerzutowego. Problem ten w niektórych sytuacjach udaje się rozwiązać, wykorzystując obecne we krwi komórki nowotworu lub uwalniający się z guza DNA (tzw. *liquid biopsy*). Diagnostyka oparta na tych technologiach szybko się rozwija i stwarza nadzieje na jej szersze zastosowanie w onkologii. Istotnym ograniczeniem jest także wysoki koszt leków celowanych, który powoduje ich zmniejszoną dostępność, zwłaszcza w mniej zamożnych państwach i regionach świata.

Wymienione uwarunkowania powodują, że obecnie leczenie celowane znajduje zastosowanie tylko u niewielkiej części chorych na nowotwory oraz nie zawsze przynosi spodziewane efekty. Przykładem jest niedawne badanie, w którym chorych na zaawansowane nowo-

twory niepodatne na standardowe metody leczenia przydzielano losowo do leczenia empirycznego lub „dopasowanego” do profilu molekularnego guza. Wbrew oczekiwaniom wyniki w obu grupach były podobne [5]. Innym problemem są przeszkody w stosowaniu leczenia celowanego, mimo wykrycia zaburzeń potencjalnie stwarzających taką możliwość. Przykładowo, w badaniu, obejmującym 2000 chorych na zaawansowane nowotwory, co prawda aż w 39% przypadków zidentyfikowano potencjalne cele molekularne, jednak z różnych powodów do badań klinicznych z udziałem odpowiednich leków celowanych udało się włączyć tylko 11% chorych [6]. W efekcie pojawiają się głosy pewnego sceptycyzmu w odniesieniu do nadziei pokładanych w terapiach celowanych [7].

4.3

Badania kliniczne z udziałem leków celowanych

Prowadzone obecnie badania kliniczne z udziałem leków celowanych obejmują dwie strategię [8]. Pierwsza to tzw. badania pod jednym parasolem (ang. *umbrella trials*), które polegają na poszukiwaniu w określonym nowotworze szeregu mutacji i w przypadku znalezienia którejś, zastosowanie dopasowanego do niej leku. Poszukiwanie celów molekularnych może mieć charakter sekwencyjny (na ogół od najbardziej do najmniej prawdopodobnego) lub równoczesny – z zastosowaniem technik tzw. sekwencjonowania nowej generacji (*new generation sequencing*, NGS). Techniki te pozwalają, przy użyciu określonego zestawu odczynników, przeprowadzić równoczesną analizę kilkudziesięciu lub nawet kilkuset mutacji w onkogenach lub genach supresorowych. Wykrycie aktywującego zaburzenia molekularnego umożliwia zastosowanie indywidualnie dobranego leku.

Drugą metodą poszukiwań są tzw. badania koszykowe (ang. *basket trials*), które obejmują wspólne badanie wielu nowotworów z obecnością tego samego zaburzenia i następnie zastosowanie w nich „dopasowanej” do tego zaburzenia, tej samej metody leczenia [9].

Przykładami są zaburzenia w genie *HER2*, obecne w raku piersi, żołądka i płuca, mutacje genu *BRAF*, występujące w czerniaku, białaczce włochatokomórkowej, raku jelita grubego, płuca i tarczycy, a także w nowotworach ośrodkowego układu nerwowego. Badania koszykowe znacznie przyspieszają rozwój nowych terapii, ale obarczone są pewnym ryzykiem. Okazuje się bowiem, że poszczególne nowotwory wykazujące to samo zaburzenie molekularne mogą się różnić wrażliwością na odpowiadający im lek celowany. Przykładem jest mutacja V600E *BRAF*, która w przypadku czerniaka i białaczki włochatokomórkowej związana jest z wrażliwością na leki hamujące szlak *BRAF*, podczas gdy większość *BRAF*-dodatnich raków jelita grubego nie odpowiada na te leki. Nie można więc zakładać, że dane zaburzenie molekularne będzie w różnych nowotworach celem dla tego samego leku. Rejestracji niektórych leków celowanych towarzyszy wskazanie konkretnego testu predykcyjnego (*companion diagnostics*), pozwalającego na właściwy dobór chorych do leczenia. Taki test musi być wcześniej wystandaryzowany oraz przejść skrupulatną techniczną i kliniczną walidację w niezależnej grupie chorych.

4.4

Przykłady personalizowanego podejścia w onkologii

4.4.1

Niedrobnokomórkowy rak płuca

Rak płuca jest najczęstszym nowotworem złośliwym w skali świata. Spośród ogółu raków płuca wyróżnia się cztery postacie histologiczne: raka płaskonabłonkowego, gruczołowego i wielkomórkowego (tworzące wspólnie grupę raków niedrobnokomórkowych) oraz raka drobnokomórkowego. Mimo różnic morfologicznych i pewnych odrębności w przebiegu klinicznym, raki niedrobnokomórkowe traktowane były jako jedna kategoria i ich leczenie było podobne.

Rozwój biologii molekularnej umożliwił wyodrębnienie spośród nich kilkunastu podtypów (stanowiących od ułamka procenta do kilkudziesięciu procent ogółu niedrobnokomórkowych raków płuca) różniących się rodzajem zaburzeń molekularnych [10]. W przypadku gruczołowego raka płuca mutacje takie wykryto dotychczas w ponad połowie przypadków i z pewnością ta lista będzie się powiększać. Okazało się, że w tych podgrupach indywidualnie dobrane leki celowane (stosowane obecnie głównie w zaawansowanych stadiach nowotworu) są znacznie skuteczniejsze i mniej toksyczne niż chemioterapia.

Przykładem jest rak z aktywującą mutacją genu receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 1 (EGFR), stanowiący około 10% ogółu niedrobnokomórkowych raków płuca. Zaburzenie to występuje względnie częściej u chorych niepalących, pochodzących z krajów wschodniej Azji oraz w rakach gruczołowych. W nowotworach z mutacją EGFR zastosowanie jednego z inhibitorów kinazy tyrozynowej (gefitynibu, erlotynibu lub afatynibu) pozwala uzyskać odpowiedź kliniczną u 70–80% chorych, w porównaniu z 30–40% uzyskiwanej pod wpływem chemioterapii, a także znacz-

nie dłuższy czas do progresji. Równocześnie u chorych bez mutacji EGFR w komórkach guza znacznie skuteczniejsza jest chemioterapia. Podobna sytuacja dotyczy raków płuca ze znacznie rzadszymi rearanżacjami genów *ALK* i *ROS1*, występującymi odpowiednio w około 4% i 1% ogółu niedrobnokomórkowych raków. W tych subpopulacjach szczególną aktywność wykazuje inhibitor swoistych kinaz tyrozynowych ALK – kryzotynib.

Obecnie w raku płuca pojawiły się już leki II i III generacji, których sekwencyjne stosowanie stwarza nadzieję na zatrzymanie rozwoju zaawansowanego nowotworu nawet na wiele lat, co dotychczas było zupełnie nieosiągalne. W tej sytuacji poszukiwanie mutacji EGFR czy rearanżacji ALK w zaawansowanym niedrobnokomórkowym raku płuca (z wyłączeniem raka płaskonabłonkowego, w którym te zaburzenia są bardzo rzadkie) stało się diagnostycznym standardem. Spośród kilkunastu pozostałych podtypów molekularnych raka płuca dla części już obecnie opracowano „dopasowane” leki molekularne, a w odniesieniu do innych prowadzi się intensywne badania, które niewątpliwie zasadniczo zmieniają strategię leczenia tego nowotworu.

4.4.2

Rak piersi

Rak piersi jest pierwszym nowotworem, w którym zastosowano celowaną metodę leczenia, choć do niedawna nikt jej tak nie nazywał. Jest nią znana od kilkadziesiąt lat hormonoterapia, która jest skuteczna tylko w rakach charakteryzujących się ekspresją receptorów steroidowych – estrogenowego i progesteronowego. Bardzo ważnym kolejnym etapem w rozwoju terapii celowanych raka piersi było odkrycie w około 15–20% przypadków nadmiernej ekspresji (*overexpression*) receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu drugiego (HER2) lub amplifikacji odpowiadającego mu genu. Zapoczątkowało to rozwój terapii skierowanych na zahamowanie

molekularnego szlaku związanego z tym zaburzeniem. Już pierwszy z leków anti-HER2 – monoklonalne przeciwciała trastuzumab (herceptyna), blokujące zewnątrzkomórkową domenę HER2, wykazał wysoką aktywność w tej wyselekcjonowanej grupie chorych. Obecnie jest on rutynowo stosowany zarówno w zaawansowanej postaci HER2-dodatniego raka piersi, jak i w leczeniu uzupełniającym zabieg operacyjny.

W następnych latach arsenał leków stosowanych w tej grupie chorych został uzupełniony o pertuzumab – przeciwciała monoklonalne o odmiennym mechanizmie działania, T-DM1 (emtansynę) – koniugat trastuzumabu z lekiem cytotoksycznym – oraz lapatynib – niskocząsteczkowy inhibitor kinazy HER2, hamujący wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnału dla szlaku HER2.

Obecnie – na podstawie ekspresji receptorów steroidowych i HER2 – raki piersi dzieli się na kilka podtypów, z których każdy wymaga odmiennej formy systemowego leczenia (chemioterapia, hormonoterapia lub leczenie anti-HER2), stosowanych jako samodzielne metody lub w skojarzeniu. Stanowi to klasyczny przykład personalizacji systemowego leczenia w onkologii.

4.4.3

Rak jelita grubego

W tym nowotworze zastosowanie znalazły dwa przeciwciała monoklonalne hamujące szlak EGFR. Początkowo stosowano je u wszystkich chorych, jednak zwrócono uwagę, że część z nich wykazuje oporność na tę formę leczenia. Okazało się, że przyczyną oporności są somatyczne mutacje genu *KRAS*, które występują w około 30–50% raków jelita grubego. Późniejsze badania wykazały, że oporność ta dotyczy także guzów, w których występują rzadsze mutacje genów z rodziny *RAS* – *HRAS* i *NRAS*. Obecnie do leczenia przeciwciałami anti-EGFR kwalifikowani są wyłącznie chorzy,

u których w komórkach nowotworu nie stwierdza się mutacji jakichkolwiek genów z rodziny *RAS*.

4.4.4

Czerniak

Badania nad tym nowotworem stanowią przykład równoczesnego rozwoju nowego leku celowanego – wemurafenibu oraz towarzyszącego mu testu diagnostycznego. W badaniu I fazy z użyciem wemurafenibu, przeprowadzonym w niewyselekcjonowanej grupie chorych, zwrócono uwagę, że odpowiedź na leczenie wystąpiła u 11 spośród 16 chorych z mutacją V600E w genie *BRAF* i u żadnego chorego bez mutacji. Obserwację tę potwierdziły badania doświadczalne i późniejsze badania kliniczne. W efekcie wemurafenib jest stosowany wyłącznie u chorych z obecnością tego zaburzenia, ocenioną przy użyciu zarejestrowanego równocześnie z tym lekiem testu diagnostycznego.

4.5

Perspektywy

Najbliższe dekady przyniosą najpewniej dalszy rozwój personalizowanego leczenia onkologicznego w wyniku zidentyfikowania nowych celów molekularnych i opracowania odpowiadających im nowych leków. Obecnie główną przeszkodą w skutecznym leczeniu nowotworów – zarówno w odniesieniu do tradycyjnej chemioterapii, jak i leków celowanych – jest rozwój wtórnej oporności. Może być ona spowodowana wytworzeniem obocznych szlaków sygnałowych w komórkach guza lub pojawiającą się w trakcie leczenia promocją pierwotnie opornych klonów komórek

nowotworowych, stanowiących początkowo niewielką, często niewykrywalną frakcję komórek guza. Problem ten będzie najpewniej wymagał nowych strategii, np. stosowania sekwencji kolejnych leków celowanych dostosowanych do zmieniającego się profilu molekularnego guza. Szczególnie zachęcająca wydaje się możliwość kojarzenia leków celowanych z innymi nowymi formami terapii, takimi jak immunoterapia czy oddziaływanie na mikrośrodowisko guza, które stają się integralnymi elementami personalizacji leczenia onkologicznego. Pierwsza z wymienionych metod obejmuje hamowanie przez swoiste przeciwciała monoklonalne punktów kontrolnych immunologicznych szlaków sygnałowych (*immune checkpoint pathway inhibitors*), takich jak receptor CTLA-4, receptor programowanej śmierci typu pierwszego (PD-1) czy jego ligand (PD-L1). Mimo że metoda ta powstała dopiero kilka lat temu, budzi ona wielkie nadzieje w związku z jej spektakularną aktywnością w wybranych nowotworach. Wydaje się, że także i w tym przypadku istotne będzie opracowanie wiarygodnych biomarkerów predykcyjnych – np. w odniesieniu do terapii „anty-PD” takim markerem wydaje się być ekspresja PD-L1.

Niezbędnym elementem rozwoju personalizowanego leczenia jest opracowanie testów diagnostycznych pozwalających na zbadanie jak największej liczby genów. Obecnie dostępna metoda sekwencjonowania całego genomu (*whole genome sequencing*) nie nadaje się tymczasem do rutynowego stosowania z uwagi na jej wysoki koszt i pracochłonność. Bardziej przydatna wydaje się natomiast metoda sekwencjonowania całego egzomu (*whole exome sequencing*), która np. w przypadku raka płuca pozwala wykryć dodatkowe 65% aktywnujących mutacji. Inne możliwości o dużych perspektywach rozwoju to znacznie prostsze i tańsze metody bazujące na analizie RNA, a zatem na poziomie transkryptomu. Badania transkryptomu umożliwiają dodatkowo wykrycie zaburzeń w obrębie niekodujących części RNA oraz w mikro-RNA – drobnych fragmentach RNA o dużym potencjale diagnostycznym i leczniczym. Arsenal badań określających

indywidualne cechy guza uzupełnią szybko rozwijające się techniki epigenetyczne i proteomiczne, a także metody oparte na tzw. płynnej biopsji, czyli materiale genetycznym obecnym we krwi. Opracowanie bardziej czułych i specyficznych biomarkerów pozwoli na optymalizację terapii u chorych w zależności od indywidualnej sytuacji klinicznej.

4.6

Podsumowanie

Współczesna onkologia coraz bardziej odchodzi od ujednoliconych metod leczenia nowotworów typu *one size fits all* na rzecz personalizowanego podejścia, będącego wynikiem szybkiego rozwoju metod badawczych i lepszego zrozumienia molekularnych podstaw nowotworzenia.

Podejście to jest względnie nowe, jednak stwarza nieograniczone możliwości rozwoju zarówno w zakresie odkrywania kolejnych molekularnych zaburzeń w komórkach nowotworowych, jak i opracowywania swoistych nowatorskich terapii. Rozwój ten stwarza realną nadzieję na zasadniczy postęp w wynikach leczenia wielu nowotworów.

Piśmiennictwo

1. Hudson T.J., Anderson W., Artez A. et al., *International Cancer Genome Consortium. International network of cancer genome projects*, „Nature”, 2010; 464:993-998.
2. Sleijfer S., Ballman K., Verweij J., *The future of drug development? Seeking evidence of activity of novel drugs in small groups of patients*. „J Clin Oncol”, 2013; 31:2246-2248.
3. Soria J.C., Massard C., Izzedine H., *From theoretical synergy to clinical supraadditive toxicity*, „J Clin Oncol”, 2009; 27:1359-1361.
4. Pao W., Hutchinson K.E., *Chipping away at the lung cancer genome*, „Nature Med”, 2012; 18:349-351.
5. Le Tourneau C., Delord J.P., Gonçalves A., *Molecularly targeted therapy based on tumour molecular profiling versus conventional therapy for advanced cancer (SHIVA): a multicentre, open-label, proof-of-concept, randomised, controlled phase 2 trial*, „Lancet Oncol”, 2015; 16:1324-34.
6. Tsimberidou A.M., Wen S., Hong D.S., *Personalized medicine for patients with advanced cancer in the phase I program at MD Anderson: validation and landmark analyses*, „Clin Cancer Res”, 2014; 20:4827-36.
7. Prasad V., Fojo T., Brada M., *Precision oncology: origins, optimism, and potential*, „Lancet Oncol”, 2016; 17:e81-86.
8. Le Tourneau C., Kamal M., Tsimberidou A.M. et al., *Treatment algorithms based on tumor molecular profiling: the essence of precision medicine trials*, „J Natl Cancer Inst”, 2016; 108:1-10.
9. Ciriello G., Miller M.L., Aksoy B.A. et al., *Emerging landscape of oncogenic signatures across human cancers*, „Nat Genet”, 2013; 45:1127-1133.
10. Korpanty G.J., Graham D.M., Vincent M.D. et al., *Biomarkers that currently affect clinical practice in lung cancer: EGFR, ALK, MET, ROS-1, and KRAS*, „Front Oncol”, 2014; 4:204.



Rozdział 5

Zdrowie publiczne a medycyna personalizowana

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Krajewski-Siuda
Instytut Nauk o Rodzinie, Wydział Nauk Społecznych,
Uniwersytet Papieski Jana Pawła II w Krakowie
mgr Krzysztof Łach
Creativ-Ceutical, Kraków

5.1

Definicje

Medycyna personalizowana (ang. *personalized medicine*, *personalized healthcare*, *individualized medicine*) wg Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków definiowana jest jako leczenie dopasowane do indywidualnej charakterystyki pacjenta, jego potrzeb i preferencji [1]. W onkologii medycyna personalizowana oznacza zastosowanie testów genetycznych, które prowadzi nie tylko do predykcji ryzyka rozwoju konkretnego typu nowotworu, ale pozwala również na ocenę polimorfizmu kluczowych enzymów odpowiedzialnych za metabolizowanie leków stosowanych w onkologii (tzw. farmakogenetyka) [2].

Nieco inaczej do medycyny personalizowanej odnosi się nurt bardzo zbliżony do wspomnianego – tzw. medycyna stratyfikowana (ang. *stratified medicine*). Medycyna stratyfikowana polega na kategoryzacji pacjentów wg ryzyka rozwoju choroby lub szansy odpowiedzi na podane leczenie. Kategoryzacja ta odbywa się za pomocą markerów diagnostycznych [3].

5.2

Zainteresowanie medycyną personalizowaną na świecie

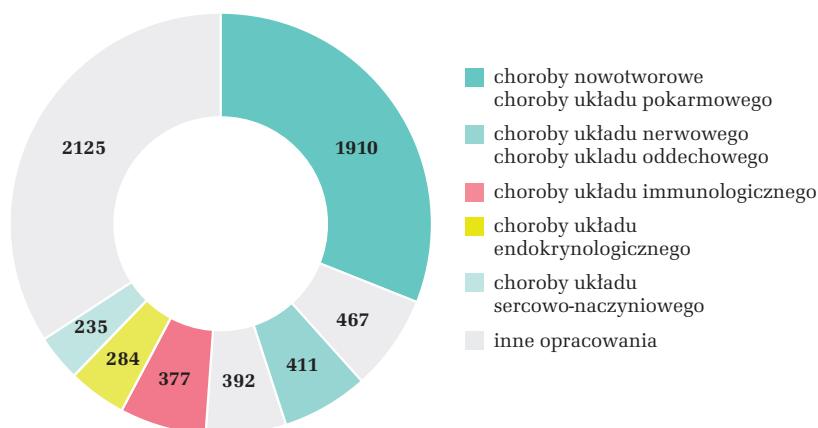
Medycyna personalizowana nie jest zupełnie nowym podejściem w medycynie; pierwsze publikacje w krajach zachodnich powstały jeszcze w latach 70. ubiegłego wieku, choć wówczas medycyna personalizowana mogła być rozumiana nieco inaczej [4]. Obecnie szacunkowa liczba opracowań naukowych dotyczących medycyny personalizowanej sięga ponad 8900¹, z czego ponad 6 tys. opracowań dotyczy ludzi, a pozostałe 3 tys. badań i testów przedklinicznych (in vitro i na zwierzętach). W ogólnej liczbie opracowań dotyczących medycyny personalizowanej zawierają się raporty ze 184 badań klinicznych. Rycina 5.1 obrazuje udział poszczególnych specjalności medycznych w ramach opracowań z udziałem ludzi.

Największy udział opracowań, jeśli chodzi o specjalności medyczne, dotyczy zastosowania medycyny personalizowanej w obszarze onkologii (ponad 30%), następnie chorób układu pokarmowego (7,5%), nerwowego, oddechowego i immunologicznego (każdy po około 6%) i w dalszej kolejności układów endokrynologicznego (4,5%)

¹ Wynik wyszukiwania w bazie informacji medycznej MEDLINE (przez PubMed) dla haseł: *personalised[tiab] OR personalized[tiab] OR Individualised[tiab] OR Individualized[tiab] AND medicine[tiab]* – stan na dzień 21.12.2015 roku.

oraz sercowo-naczyniowego (ponad 3,5%). Inne opracowania, które stanowią ponad 1/3 wszystkich opracowań z udziałem ludzi, mogą dotyczyć kolejnych, niewymienionych powyżej specjalności medycznych, ale również opracowań bardziej ogólnych, niezwiązanych z konkretną specjalnością.

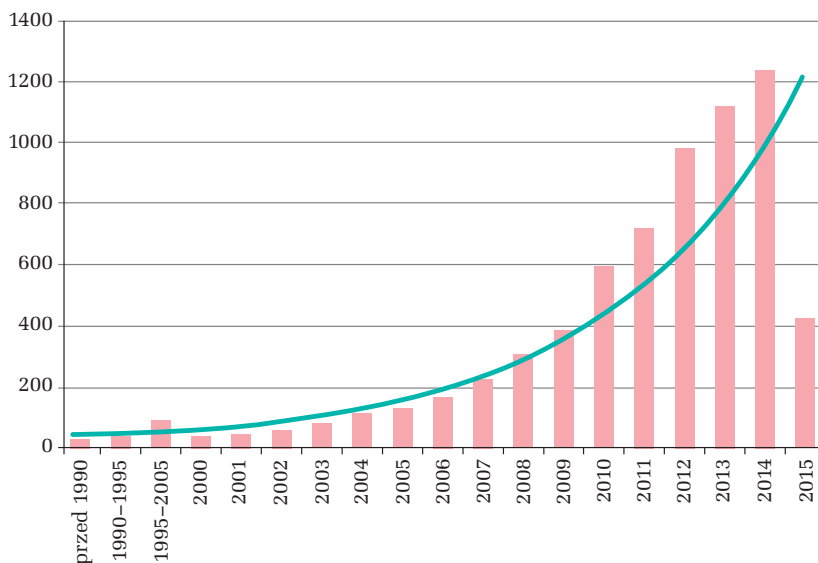
Ryc. 5.1 Liczba opracowań naukowych dotyczących zastosowania medycyny personalizowanej u ludzi w podziale na specjalności medyczne



Źródło: Opracowanie własne

Prawie 3 tys. opracowań dotyczących medycyny personalizowanej w fazie przedklinicznej oraz ponad 180 badań klinicznych wskazuje, że jest to bardzo dynamicznie rozwijająca się dziedzina medycyny.

Fakt dynamicznego rozwoju medycyny personalizowanej znajduje potwierdzenie również w dynamice przyrostu publikacji dotyczących tego podejścia w medycynie. Do roku 2005, liczba publikacji na temat medycyny personalizowanej rosła stabilnie w tempie arytmetycznym. Jednakże w ostatniej dekadzie obserwujemy wzmożone

Ryc. 5.2 Dynamika publikowania na temat medycyny personalizowanej

Źródło: Opracowanie własne

zainteresowanie medycyną personalizowaną, na co wskazuje przyrost opracowań naukowych w tempie geometrycznym – wzrost liczby opracowań w ciągu ostatniej dekady przekroczył 900% (ryc. 5.2).

Do interpretacji liczby publikacji w roku 2015 ($n=414$) należy podejść z ostrożnością. Wynik ten jest bowiem niedoszacowany, ponieważ część rekordów dla tego roku nie jest jeszcze odpowiednio zaindeksowana. Wzrost w tempie wykładniczym byłby obserwowany ze sporym prawdopodobieństwem, nawet jeśli ta dynamika jest częściowo wyjaśniona przez postępującą technologię i ogólny wzrost publikowania doniesień naukowych w bazach informacji medycznych, takich jak MEDLINE.

5.2.1

Badania i rozwój medycyny personalizowanej

Potwierdzeniem wysokiego zainteresowania medycyną personalizowaną jest fakt planowanych ogromnych kwot, które Komisja Europejska w ramach programu „Horyzont 2020” przeznaczy właśnie na medycynę personalizowaną [5]. Program roboczy przewidziany na lata 2016–2017 pod nazwą „Zdrowie, zmiany demograficzne i dobrostan” (ang. *Health, demographic change and well-being*) zachęca do składania wniosków o potencjale badawczym i innowacyjnym w następujących obszarach medycyny personalizowanej:

- **zrozumienie zdrowia, dobrostanu i choroby** m.in. przez rozwój dziedzin, takich jak genomika, proteomika i metabolomika, wspierających rozwój terapii personalizowanych w leczeniu chorób układu immunologicznego oraz rozwój nowych koncepcji stratyfikacji pacjentów,
- **zapobieganie chorobom** (Europejska Inicjatywa BioMonitoringu Ludzkiego, rozwój szczepień przeciwko malarii i/lub innych zaniedbywanych chorób zakaźnych),
- **leczenie chorób** m.in. przez rozwój nowych terapii sierocych (choroby rzadkie), badania kliniczne dotyczące medycyny regeneracyjnej,
- **aktywne starzenie się i samzarządzanie chorobą** (ang. *self-management*) przez personalizowany coaching osób starzejących się w kierunku poprawienia dobrostanu i ogólnej opieki,
- **metodologia i dane** – personalizowane modele komputerowe, dane wspierające politykę zdrowia publicznego, rozwój nowych metod ewaluacji ekonomicznych i pomiarów wydajności w sektorze ochrony zdrowia,
- **świadczenie usług zdrowotnych i opieka zintegrowana** (ang. *integrated care*) przez badania dotyczące wdrożenia innowacji opartych na dowodach naukowych (ang. *evidence-based innovations*) i dobrych praktyk w Europie i innych krajach niskiego i średniego dochodu.

Na powyższe Komisja Europejska przeznaczy prawie 1 mld euro w ciągu dwóch najbliższych lat (ok. 500 milionów euro w 2016 roku i nieco ponad 433 miliony w roku 2017) [5].

5.2.2

Kto zajmuje się badaniem medycyny personalizowanej na świecie?

Na świecie istnieje nieco ponad 60 wyspecjalizowanych centrów badawczych zajmujących się zastosowaniem medycyny personalizowanej u ludzi². Liczba ta jest z pewnością niedoszacowana z uwagi na to, że badania w obszarze medycyny personalizowanej podejmują również inne centra, jednostki badawcze, nie tylko te mające w nazwie komponent *personalized* lub *individualized*. Przykłady zidentyfikowanych jednostek badawczych według krajów/regionów przedstawiono w tabeli 5.1.

Ośrodki badawcze zajmujące się medycyną personalizowaną znajdują się na każdym kontynencie. Liderem pozostają Stany Zjednoczone (co najmniej 32 ośrodki), a zbliżona liczba jednostek (łącznie) prowadzi badania w Europie i Azji.

² Na podstawie własnego wyszukiwania w bazie informacji medycznej MEDLINE (jednostki badawcze mające w nazwie jeden z następujących komponentów: *personalised*, *personalized*, *individualised*, *individualized*).

Tabela 5.1 Przykładowe jednostki badawcze dedykowane medycyny personalizowanej na świecie

Kraj/region	Przykładowe jednostki badawcze
Stany Zjednoczone	- Center of Individualized Medicine, Mayo Clinic, USA - Indiana Institute of Personalized Medicine, School of Medicine, Indiana University at Indianapolis, Indiana, USA - Center for Biomarker Research & Personalized Medicine, Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia, USA - BIOMARC Institute for Personalized Medicine, Pacific Medical Center, San Francisco, California, USA
Europa i Bliski Wschód	- Genomics and Personalized Medicine Section, Dexeus Woman's Health, Barcelona, Spain - Centre for Rare Diseases and Personalized Medicine, University of Birmingham, Birmingham, UK - Centre for Individualised Medicine in Arterial Diseases, Odense University Hospital, Odense, Denmark - Personalized Medicine, Pharmacogenomics, Therapeutic Optimization, Université Paris Descartes, Paris, France - The Nancy and Stephen Grand Israel National Center for Personalized Medicine (INCPM), Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
Azja	- Institute for Individualized Medicine, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou, China - Jiangsu Collaborative Innovation Center for Cancer Personalized Medicine, Cancer Center, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu Province, China - Center for Genomic and Personalized Medicine, Guangxi Medical University, Nanning, China - Biomarkers and Personalized Medicine, Core Function Unit, Eisai Co., Ltd, Tsukuba, Ibaraki, Japan - Division of Pharmacogenomics and Personalized Medicine, Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand - Laboratory for Translational Oncology and Personalized Medicine, Rashid Latif Medical College, Lahore, Pakistan
Australia	- Systems Biology and Personalised Medicine Division, Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Parkville, Victoria, Australia - Systems Biology and Personalised Medicine Division; Structural Biology Division; Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research; Faculty of Medicine, Dentistry and Health Sciences, Department of Medical Biology, University of Melbourne, Parkville

5.3

Zainteresowanie medycyną personalizowaną w Polsce

Opracowania dotyczące medycyny personalizowanej w języku polskim stanowią promil opracowań światowych. Jest to około 44 publikacji naukowych z lat 2004–2015 zidentyfikowanych w MEDLINE. Ponadto dostępne są inne opracowania z czasopism nieindeksowanych w MEDLINE. Dostępne publikacje naukowe stanowią raczej rozproszony zbiór prac poglądowych i komentarzy na temat medycyny personalizowanej.

Definicja medycyny personalizowanej w polskich opracowaniach zwraca uwagę na jej interdyscyplinarność oraz cel, podkreśla też zindywidualizowany charakter danych pacjenta:

Medycyna personalizowana jest multidyscyplinarną, stale rozwijającą się dziedziną opieki medycznej, której celem jest poprawa skuteczności, efektywności, bezpieczeństwa i kosztów terapii, jak również przewidywanie i zapobieganie chorobom. Opiera się ona na unikatowych dla każdego pacjenta danych klinicznych, genetycznych, społecznych i środowiskowych [6].

Należy zauważyć dość ogólny charakter pierwszej części definicji, która mogłaby znaleźć zastosowanie w wielu innych nurtach medycyny (np. w zdrowiu publicznym). Rozwój medycyny personalizowanej w Polsce będzie prawdopodobnie skutkował doprecyzowaniem definicji tego podejścia w zależności od kierunku rozwoju (stratyfikacja, indywidualne zestawy danych, genomika).

Istniejące polskie publikacje podkreślają potrzebę badań nad genomem ludzkim jako podstawę do rozwoju medycyny personalizowanej w Polsce [7]. Tymczasem, z pobieżnej analizy opracowań naukowych z całego świata, jasno wynika, że jest to tylko jeden z warunków wstępnych do rozwoju medycyny personalizowanej w Polsce. Innymi, kluczowymi warunkami są:

- edukacja profesjonalistów medycznych na temat medycyny personalizowanej,
- dyskurs etyczny dotyczący ochrony danych osobowych w badaniach nad genomem ludzkim i sposobów przechowywania materiału genetycznego,
- oparta na dowodach systematyczna analiza korzyści i zagrożeń medycyny personalizowanej w obszarze onkologii i innych specjalności medycznych,
- technologiczne, legislacyjne i polityczne uwarunkowania racjonalnego ekosystemu medycyny personalizowanej uwzględniające wymaganą infrastrukturę, aparaturę i wyspecjalizowaną kadrę.

5.4

Medycyna personalizowana a EBM – konflikt pozorny

W kilku polskich i światowych opracowaniach naukowych podkreśla się potencjalne zderzenie pomiędzy medycyną personalizowaną, a nurtem EBM (medycyna oparta na dowodach, ang. *Evidence-Based Medicine*). Podejście EBM w skrócie polega na wykorzystywaniu zagregowanych danych pochodzących z różnego rodzaju badań (klinicznych, obserwacyjnych) z udziałem pacjentów stosujących różne terapie do wspomagania indywidualnych decyzji klinicznych w procesie profilaktyki, diagnostyki i leczenia pacjentów w warunkach realnej praktyki klinicznej. Wykorzystując EBM do takich celów, należy zawsze uważnie ocenić, jak wyniki z takich obserwacji w warunkach eksperymentu medycznego (wiarygodność wewnętrzna) będą miały przełożenie na praktykę kliniczną (wiarygodność zewnętrzna). Zastosowanie metod EBM skutkuje swoistym „rozcieńczeniem” wyniku (podanie średniego wyniku), w badaniach, w których uczestniczy wielu pacjentów, podczas gdy pacjenci ci w różnym stopniu odpowiedzą na leczenie, a także doświadczą

działań niepożądanych w różnym nasileniu i liczbie [7]. Niemniej, coraz bardziej złożone badania kliniczne i obserwacyjne wykorzystują metody medycyny stratyfikowanej przez grupowanie pacjentów wg czynników ryzyka oraz innych prognostycznych czynników, które mogą wpływać na efekt terapii w danym segmencie pacjentów.

W dyskursie, czy medycyna personalizowana pozostaje w konflikcie z EBM nie bierze się pod uwagę nowoczesnych rozwiązań, takich jak metaanaliza indywidualnych zestawów danych pochodzących od pojedynczych pacjentów, która stoi w kontraście do danych zagregowanych [8]. Metody medycyny stratyfikowanej oraz zaawansowane techniki metaanalizy indywidualnych zestawów danych to obszar zbieżny w EBM i medycynie personalizowanej. Tworzy raczej synergę pomiędzy tymi podejściami, niż przeciwdziała.

Potwierdzają to inicjatywy takie jak Oncotryol badające rolę oceny technologii medycznych (*Health Technology Assessment*; HTA), która jest mocno osadzona w filozofii EBM w ogóle, a w medycynie personalizowanej w obszarze onkologii [9]. Rezultatem takich inicjatyw na styku EBM/HTA i medycyny personalizowanej jest opracowanie metodologii wczesnej oceny skuteczności terapii personalizowanych i podejmowania decyzji, czy dana terapia dobrze rokuje w zabezpieczeniu potrzeb terapeutycznych danych grup pacjentów.

5.5

Zastosowanie medycyny personalizowanej w różnych obszarach chorobowych

Terapie stratyfikowane mają zastosowanie nie tylko w onkologii lub w chorobach układu sercowo-naczyniowego. W chorobach układu immunologicznego medycynę personalizowaną wykorzystuje się np. w celu identyfikacji predyktorów odpowiedzi na wczesne leczenie reumatoidalnego zapalenia stawów. W ostrej postaci astmy

zastosowanie medycyny personalizowanej prowadzi do wyboru terapii dostosowanej do pacjenta na podstawie uprzedniej analizy charakterystyki eozynofilowej. Praktyczne zastosowanie medycyny personalizowanej w chorobach zakaźnych oznacza rozwój metod diagnostycznych identyfikujących konkretne patogeny bakteryjne, przeciwko którym następnie są wdrażane terapie. W leczeniu cukrzycy stosowane są testy molekularne dla predykcji pacjentów z ryzykiem, co sygnalizuje podjęcie wczesnych interwencji. W leczeniu depresji medycyna personalizowana koncentruje się na zrozumieniu mechanizmów odpowiadających za brak odpowiedzi na leczenie u niektórych pacjentów oraz ich stratyfikację przez zaobserwowanie odpowiednich biomarkerów. Prowadzi to do rozwoju nowych terapii wrażliwych na ten segment pacjentów [10].

5.6

Podsumowanie

Zdrowie publiczne jako nauka i sztuka dotyczy wszystkich metod i działań na rzecz zdrowia ogółu. W pierwszym spojrzeniu kłóci się to z podejściem medycyny personalizowanej, czy zindywidualizowanej, która z natury dotyczy jednostki. Jednak zarówno indywidualne korzyści, jak i indywidualne zagrożenia sumują się na efekt populacyjny, co sprawia, że medycyna personalizowana jest w obszarze zainteresowań zdrowia publicznego.

Korzyści różnych działań z zakresu medycyny personalizowanej zostały częściowo rozpoznane w różnych chorobach, w jednych lepiej (onkologia), w innych ciągle wymagane są jeszcze badania.

Jedną z udokumentowanych korzyści medycyny personalizowanej jest metoda identyfikowania pacjentów, dla których konkretny lek w danej klasie jest nieefektywny. Innymi słowy, konkretny segment pacjentów nie reaguje na podane leczenie. Rozpoznano, że

antydepresanty średnio dla 38% pacjentów będą nieskuteczne, leki antyastmatyczne dla 40%, przeciwcukrzycowe dla 43%, te stosowane w zapaleniu stawów dla 50%, a leki w chorobie Alzheimera i nowotworach będą nieskuteczne aż dla odpowiednio 70 i 75% pacjentów [11].

Dzięki takiej stratyfikacji podejmowane mogą być konkretne działania kliniczne zmierzające do identyfikacji odpowiedniej, skrojonej na miarę terapii dla każdego pacjenta. W związku z zastosowaniem każdej metody z zakresu medycyny personalizowanej, która na celu będzie miała odpowiednią segmentację pacjentów (diagnostyka) i ich następujące leczenie, potrzebna będzie ocena skuteczności, bezpieczeństwa i opłacalności tych metod. Z tą dynamicznie rozwijającą się dziedziną wiązane są duże nadzieje. Jej zastosowanie i rozpowszechnienie będzie uzależnione od systematycznej i rzetelnej oceny efektywności klinicznej i kosztowej, która w wielu krajach zachodnich jest standardem wspierającym proces podejmowania decyzji przez odpowiednie organy odpowiedzialne za dostępność i finansowanie technologii profilaktycznych, diagnostycznych i terapeutycznych.

Piśmiennictwo

1. US FDA. *Paving the Way for Personalized Medicine*, „Per Med”, 2013.
2. Butts C., Kamel-Reid S., Batist G., Chia S., Blanke C., Moore M., *Benefits, issues, and recommendations for personalized medicine in oncology in Canada*, „Curr Oncol”, 2013; 20:475-83.
3. *The Academy of Medical Sciences, Realising the potential of stratified medicine*, „Acad Med Sci”, 2013.
4. Gibson W.M., *Can personalized medicine survive?*, „Can Fam Physician”, 1971; 17:29-88.
5. Komisja Europejska, Horyzont 2020. URL: <http://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/> [dostęp 06.02.2016]
6. Chmara E., *Medycyna spersonalizowana* [w:] „Personalised medicine”, 2011; 133-5.
7. Gaciong Z., *Medycyna personalizowana – nowa era diagnostyki i farmakoterapii*.
8. Riley R.D., Lambert P.C., Abo-Zaid G., *Meta-analysis of individual participant data: rationale, conduct, and reporting*, „BMJ”, 2010; 340:c221.
9. Siebert U., Jahn B., Rochau U. et al., *Oncotyrol – Center for Personalized Cancer Medicine: Methods and Applications of Health Technology Assessment and Outcomes Research*, „Z Evid Fortbild Qual Gesundheitsw”, 2015; 109(4-5):330-40. doi: 10.1016/j.zefq.2015.06.012.
10. ABPI, *The stratification of disease for personalised medicines. Research driven recommendations to strengthen a unified UK strategy through a stakeholder alliance*, „Vision Paper”, September 2014.
11. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J., „Clinical Trends in Molecular Medicine”, vol. 7, Issue 5, 1 May 2001, pages 201-204.

Medycyna personalizowana (ang. *personalized healthcare, personalized medicine*) to koncepcja, która opiera się na zrozumieniu różnic między pacjentami chorującymi na tę samą chorobę i na jednoczesnym poznawaniu złożoności chorób. Dzięki tej wiedzy możliwe jest dobieranie odpowiednich terapii do konkretnych grup pacjentów. Medycyna personalizowana pozwala przewidzieć, czy określona terapia okaże się skuteczna dla danego pacjenta. Podstawą medycyny personalizowanej są badania nad ludzkim genomem i wykorzystanie wiedzy z zakresu genetyki, genomiki i proteomiki.

Medycyna personalizowana oznacza też ściśle współdziałanie diagnostyki i terapii, ponieważ to właśnie precyzyjne metody diagnostyczne pomagają ustalić różnice między chorującymi na tę samą chorobę pacjentami, a następnie dopasowywać leczenie do konkretnych grup chorych. Wyrazem tego jest choćby wprowadzenie do medycyny nowego terminu „teranostyka”, który jest połączeniem słów „terapia” i „diagnostyka”.

ze Wstępu prof. dr. hab. n. med. Zbigniewa Gacionga