

## Molekulare Analytik beim Mammakarzinom Erweiterte therapeutische Möglichkeiten durch umfassende Diagnostik

Die moderne Präzisionsonkologie hält zunehmend Einzug in die Therapie von Krebspatienten. Auch in der Behandlung des Mammakarzinoms gewinnen zielgerichtete und immunonkologische Therapien, deren Einsatz auf der Analyse des genetischen Tumorprofils basiert, an Bedeutung. Grund dafür ist das wachsende Verständnis, welche Strukturen im Tumorgenom Erkrankungsverläufe bei Brustkrebs beeinflussen und sich als Angriffspunkte für entsprechende Therapien eignen. Eine zunehmende Zahl relevanter Biomarker eröffnet neue Chancen für die Patientinnen. Voraussetzung dafür ist ihre zuverlässige Identifikation auch im klinischen Alltag. Dabei gilt es nicht nur, die genetischen Daten zu extrahieren, sondern auch in klinisch anwendbares Wissen zu übersetzen. Software-Anwendungen wie MH Guide bieten hier relevante Vorteile für präzise und zügige Entscheidungen zugunsten einer besseren Versorgung der Patientinnen.

### Relevante Biomarker beim Mammakarzinom

Im vergangenen Jahrzehnt hat eine stark verfeinerte molekularbiologische Charakterisierung beim Mammakarzinom verschiedene zielgerichtete therapeutische Ansätze ermöglicht [1–3]. So werden beim metastasierten Mammakarzinom in einem guten Drittel der Tumoren therapierelevante Mutationen gefunden (Abb. 1; [4]), die teilweise als obligate Biomarker für bestimmte zielgerichtete Therapien nachgewiesen werden müssen [5] und teilweise bereits in Leitlinien verankert sind [6, 7].

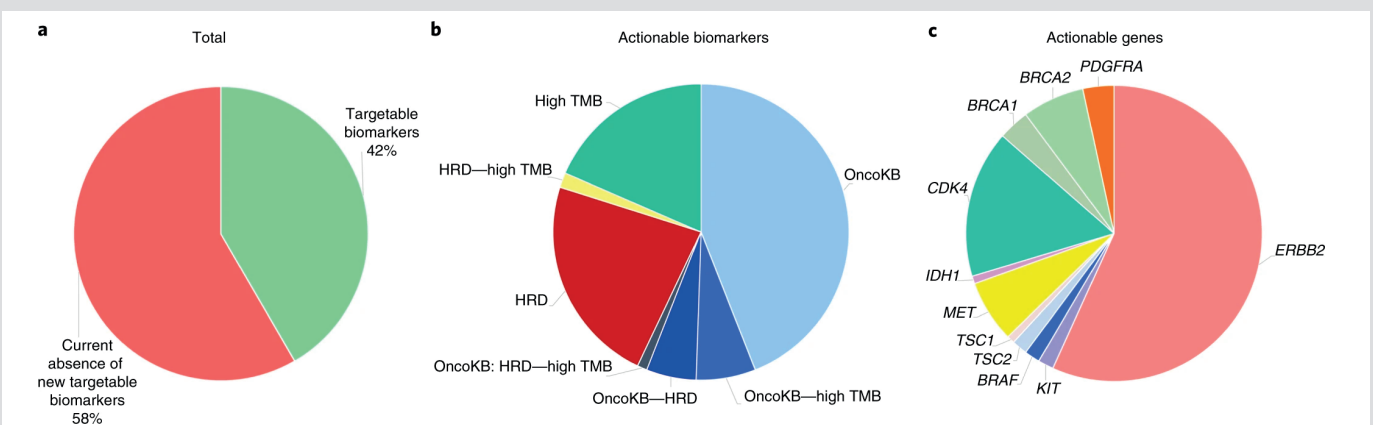
Beispiele für Biomarker, die zur Behandlung des Mammakarzinoms bestimmt werden müssen, sind [6]:

- Östrogenrezeptor (ER) und Progesteronrezeptor (PgR), die beide immunhistochemisch bestimmt werden, sind für eine endokrine Therapie des Mammakarzinoms relevant und lange etabliert.
- Dazu gehört auch die Amplifikation des HER2-Gens, die entweder immunhistochemisch als Überexpression des Proteins oder per In-situ-Hybridisierung (ISH) nachgewiesen wird. Sie ist prädiktiv für die Effektivität von Medikamenten, die den entsprechenden Rezeptor inhibieren.

- Zudem prognostisch relevant ist die Expression von Ki-67, die ein Maß für die Proliferationsrate und damit für die Aggressivität des Tumors darstellt.
- Mutationen in den Tumorsuppressor-Genen BRCA1/2 oder im PI3KCA-Gen sind Voraussetzung für den Einsatz von PARP- bzw. PI3KCA-Inhibitoren und gehören zu den ersten Biomarkern, die eine erweiterte molekulare Diagnostik auch beim Mammakarzinom erfordern.
- Zu den jüngst erforschten und sehr wahrscheinlich künftig ebenfalls relevanten therapieleitenden Biomarkern gehören zudem Translokationen des NTRK-Gens, Mikrosatelliten-Instabilität (MSI) und die Expression von PD-L1 im Tumorgewebe [5].

### Erweiterte molekulare Diagnostik: neue Optionen für Patientinnen

Hinter dem Nachweis dieser Biomarker stehen therapeutische Möglichkeiten, die dem Onkologen erweiterte Behandlungsoptionen bieten und für die Patienten mitunter einen Zugewinn an Lebenszeit und/oder Lebensqualität bedeuten können. Daher sollte die genetische Beschaffenheit des Tumors idealerweise so früh und umfassend wie möglich in die Behandlung mit einbezogen werden. Bei Patientin-



**Abb. 1** Häufigkeit therapierelevanter Biomarker beim Mammakarzinom: a. Prozentanteil der Patienten mit und ohne therapierelevante/-n Biomarker/-n, b. therapierelevante Biomarker nach Typ, c. von der Datenbank OncoKB indizierte Gene, für die zielgerichtete Arzneimittel durch die FDA zugelassen sind. Nach [4].

nen, für die keine Standardtherapie mehr zur Verfügung steht, besteht die Möglichkeit, Biomarker für noch nicht zugelassene Medikamente zu ermitteln, um sie in entsprechende Studien einzuschließen. Die Breite der Analytik kann je nach Stadium der Tumorerkrankung sequenziell angepasst werden. Die umfassendsten Informationen liefert jedoch eine breite molekulare Diagnostik.

## Wie läuft die molekulare Testung ab?

**Präanalytik:** Die molekulare Diagnostik erfolgt im Regelfall aus einer Biopsie. Es kann in Formalin fixiertes und in Paraffin eingebettetes Material, auch aus histopathologischen Schnitten, verwendet werden, aus dem die DNA mithilfe von Standardmethoden extrahiert wird. Die molekulare Testung der Tumor-DNA erfolgt durch einen Pathologen bzw. Molekularpathologen und muss durch den Onkologen angefordert werden.

**Analytik/Nachweisverfahren:** Für die molekularpathologische Analyse kommen grundsätzlich „targeted“ oder Screening-Methoden infrage. Die digitale Polymerasekettenreaktion (PCR) oder das BEAMing-Verfahren zeichnen sich durch extrem hohe Sensitivitäten aus, eignen sich aber nur zur gezielten Suche einzelner vorab definierter Mutationen. Auch bei der Pyrosequenzierung ist der zu analysierende Bereich im Genom eng eingegrenzt. Innerhalb einer solchen Hotspot-Region lassen sich dann aber alle bekannten Varianten (z. B. innerhalb der BRCA1/2-Gene) zuverlässig ermitteln. Als Screening-Methoden kommen heute vor allem Next Generation Sequencing (NGS)-Methoden zum Einsatz, die eine parallele Detektion vieler genomischer Varianten in einem Arbeitsgang gestatten [8–10]. Das Ergebnis sind enorme Datenmengen, die im Rahmen der Postanalytik aufwendig bewertet und interpretiert werden müssen (Genvarianten-Annotation).

**Postanalytik:** Die Sequenz-Analyse vor allem bei Anwendung von NGS zeigt meist zahlreiche Genvarianten, die in der Mehrheit harmlose Normvarianten ohne bekannten Krankheitswert darstellen (Polymorphismen). Erst durch die aufwendige Filterung nach valide detektierten, pathogenen Varianten (Genvarianten-Annotation) und deren Interpretation durch den Molekularpathologen entsteht eine handhabbare Liste der klinisch relevanten Varianten, die zur Therapieentscheidung zu Hilfe genommen werden kann [11].

Besonders mit der NGS-Analytik steht ein Verfahren zur Verfügung, das umfassende Erkenntnisse über die genetische Beschaffenheit einer Brustkrebserkrankung bringen kann. Aus diesen Rohdaten relevante Biomarker zu identifizieren und therapeutische Entscheidungen abzuleiten, ist eine gemeinsame Herausforderung für Molekularpathologen, Bioinformatiker und Onkologen. Unterstützung bieten hier Software-Analyse-Tools wie MH Guide.

## MH Guide: Entscheidungshilfe für Onkologen

MH Guide ist eine Analyse-Software, die Molekularpathologen und Onkologen bei der Interpretation umfangreicher molekularer Datensätze unterstützt. Die Software macht komplexe NGS-Datensätze lesbar und identifiziert automatisiert relevante genetische Varianten, die für die Behandlung von Brustkrebspatientinnen von Bedeutung sind. Diese Informationen werden in konkretes klinisches Wissen übersetzt. MH Guide erstellt dazu einen Bericht, der alle detektierten Biomarker auflistet, deren Relevanz bewertet und entsprechende potenziell wirksame Therapien, deren Zulassungsstatus sowie mögliche Sicherheitsrisiken aufführt. Zudem verweist die Software auf laufende klinische Studien, für die die Patientin aufgrund ihres genetischen Tumorprofils möglicherweise infrage kommt. Möglich ist das durch eine zugrundeliegende Datenbank, die laufend publiziertes medizinisches Wissen verarbeitet, strukturiert, für die automatisierte Genvarianten-Interpretation aufbereitet und von medizinischen Experten kuratiert wird.

Der MH Guide-Bericht ist auch für Nicht-Molekularpathologen lesbar und verständlich aufbereitet. Zudem bietet MH Guide eine cloudbasierte Plattform, mit der Onkologen und Molekularpathologen Patientenfälle gemeinsam bearbeiten können – wie bspw. in molekularen Tumorboards, in denen diese interdisziplinär besprochen und Therapieentscheidungen gemeinsam getroffen werden.

Zusammengefasst bietet MH Guide einen präzisen Bericht mit praktischem Überblick für Onkologen und integriert molekulare Diagnostik so nahtlos in den klinischen Alltag.

## Literatur

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011; 144: 646-74.
2. Koboldt D et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012; 490: 61-70.
3. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15: 353-65.
4. Angus L et al. The genomic landscape of metastatic breast cancer highlights changes in mutation and signature frequencies. *Nat Genet* 2019; 51: 1450-8.
5. Schmidt M. Zielgerichtete Therapie beim metastasierten Mammakarzinom – welche molekularen Tests sind notwendig? *J Gynakol Endokrinol* 2020, June 2 [prepub ahead of print, DOI: 10.1007/s41974-020-00141-z].
6. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Version 4.3 (Mai 2020), verfügbar unter <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/> (letzter Zugriff am 30.09.2020)
7. Mammakarzinom der Frau - Onkopedia Leitlinien, (Januar 2018), verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/mammakarzinom-der-frau/@guideline/html/index.html#ID0E6RAG> (letzter Zugriff am 31.03.2020).
8. Hovelson DH et al. Development and validation of a scalable next-generation sequencing system for assessing relevant somatic variants in solid tumors. *Neoplasia* 2015; 17: 385-99.
9. Gonzalez-Garay ML. The road from next-generation sequencing to personalized medicine. *Per Med* 2014; 11: 523-44.
10. Dong L et al. Clinical next generation sequencing for precision medicine in cancer. *Curr Genomics*. 2015; 16: 253-63.
11. Li MM et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: A Joint Consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn* 2017; 19: 4-23.