

Příloha č. 1:

Název projektu:

Prospektivní validační studie proteinových biomarkerů rakoviny plic v dechového kondenzátu v pilotním skríninku ultranízkozářkovým CT u pacientů se zvýšeným rizikem bronchogenního karcinomu

Navrhovatel a uchazeč:

████████████████████ – Ústav molekulární a translační medicíny LF UP

Spolunavrhovatel a spoluuchazeč:

████████████████████ – 1. klinika tuberkulózy a respiračních nemocí 1.LF UK a VFN Praha

████████████████████ Radiodiagnostická klinika 1.LF UK a VFN Praha

████████████████████ - Masarykův onkologický ústav v Brně

████████████████████ – Masarykův onkologický ústav v Brně

████████████████████ – Plicní ambulance MUDr. I. Čierná Peterová s.r.o. Brandýs n/L

████████████████████ Plicní oddělení, Nemocnice AGEL Ostrava-Vítkovice a.s.

████████████████████ – Fakultní nemocnice Olomouc

████████████████████ – Fakultní nemocnice Olomouc

████████████████████ – Nemocnice Nymburk, s.r.o.

Souhrn

Projekt má za cíl validovat nově identifikované biomarkery rakoviny plic v dechovém kondenzátu pro diagnostiku i triáž plicních uzlů (maligní versus benigní), dále nastavit mechanismy fungování skrínigového centra plicní rakoviny, validovat indikátory kvality skríningu LDCT pro Českou republiku a stratifikovat kohortu probandů tak, aby byl optimalizovaný výstup skrínigových aktivit. U pacientů ve věku 55-74 let s vysokou zátěží cigaret (více než 20, přednostně více než 30 pack/years) bude prováděno rozřazení do rizikových skupin dle biomarkerů ve vydechovaném vzduchu, klinicko/anamnestických dat a stupně obstrukční ventilační poruchy dle spirometrie a následně dojde k efektivní stratifikaci rizika bronchogenního karcinomu. U skupiny s nejvyšším rizikem vzniku plicní rakoviny pak bude provedena diagnostika časně plicní rakoviny pomocí ultranízkozářkové výpočetní tomografie hrudníku. Do studie mohou být zařazeni i pacienti přicházející na CT hrudníku z důvodu jiného incidentního nálezu. Tím dojde k časně diagnostice a následně ke snížení úmrtnosti sledované aktivní skupiny vzhledem k historické kohortě. Primárním výstupem bude validace multiplexního proteinového podpisu ve vydechovaném vzduchu, efektivita skrínigového postupu na redukci mortality na plicní rakovinu a celkovou mortalitu u skupiny s FEV1 prebronchodilatační 60-75% s celou skupinou vyšetřovaných. Sekundárním výstupem pak bude celkový čas diagnostiky solitárního plicního uzlu u pozitivně skrínovaných pacientů u kterým není dostatečným postupem jen observace. Dalším sekundárním výstupem budou náklady na skrínigové postupy u jednotlivých skupin a procentuální úspěšnost protikuřácké intervence u vyšetřovaných probandů. Hodnocen bude i počet nově zachycených intersticiálních plicních procesů.

Úvod

Plicní rakovina reprezentuje stále 12,3% všech nových diagnostikovaných případů rakoviny a v ročně tímto onemocněním onemocní asi 1 400 000 lidí. Onemocnění má vyšší incidenci u mužů (i když incidence u žen na úkor mužů v poslední době stoupá) a nejvyšší výskyt je zaznamenáván ve Východní Evropě, Severní Americe, Australii/Novém Zélandu a Jižní Americe. Kouření cigaret je dobře dokumentovanou příčinou plicní rakoviny a asi 90% případů tohoto onemocnění je kouřením přímo způsobeno. Byla také jasně dokumentována závislost

počtu vykouřených cigaret/den, hloubce inhalace a věku kuřáka na vznik plicní rakoviny. V posledních několika letech je vyvíjeno maximální úsilí o to, aby se diagnostika bronchogenního karcinomu zkvalitnila a zejména zrychlila. Pokud totiž onemocnění zachytíme v jeho pozdní fázi, jak je u nás a i ve světě zatím obvyklé, je pětiletá úmrtnost kolem 85 procent. Vysvětlí tohoto špatného přežívání je pravděpodobně v rozsahu onemocnění při diagnostice. V době diagnózy má totiž jen 20% pacientů lokalizovanou chorobu. I v případě, kdy je nádor radiologicky lokalizován je pětileté přežití jen 30-40%. Ve Spojených státech, kde je skríníng plicní rakoviny již zavedenou metodou je prevalence kouření jen 15 procent, kdežto v České Republice, kde skríníng zatím neexistuje je aktivním kuřákem každý čtvrtý dospělý a asi 12% žáků základní školy. Intervence kuřáckého návyku je tedy velmi důležitá, i když výsledky intervenčních programů zatím bohužel nejsou příliš uspokojivé. Tento fakt a to, že stále více plicních nádorů diagnostikujeme u bývalých (ne aktivních) kuřáků vede k tomu, že se stále více soustředíme na sekundární prevenci- skríníng.

V roce 2011 byla ukončena studie NLST (National Lung Screening Trial- USA), která na celkově 53 456 probandech s vysokou zátěží kouřením (aktivní a bývalí kuřáci 55 až 74 let 30 pack/years zařazení 2002-2004) srovnávala efektivitu skríníngu pomocí nízkodávkovaného CT hrudníku proti skiagramu hrudníku v 0,1 a 2 letech. Výsledkem bylo snížení mortality na bronchogenní karcinom u skupiny skrínované pomocí CT o 20,3% (354 úmrtí v.s 442 úmrtí) Ještě významnější je však snížení celkové mortality o 8% u skupiny pacientů skrínovaných pomocí CT hrudníku. Na základě výsledků této studie byl ve spojených státech zaveden a pojišťovnami proplácen plošný skríníng rizikových pacientů od konce roku 2014.

V Evropě byla v roce 2018 vyhodnocena studie NELSON. Tato studie hodnotila 15792 účastníků s vysokým rizikem plicní rakoviny - subjektů kuřáků, či exkuřáků se zátěží >15 cigaret/den 25 let (20 pack-years), nebo > 10 cigaret/den 30 let (15 pack-years) kouřících v posledních 10 letech. Skrínovací vyšetření probíhala v 1,2,4 a 6,5 roce a po minimálně 10 letém sledování prokázala snížení mortality na plicní rakovinu u vyšetřované skupiny.

Výsledky jsou ještě výraznější, nežli výsledky NLST. Studijní skupina dosáhla 41% redukce mortality- 26% snížení úmrtnosti u mužů a mezi 39 a 61% (v různých letech sledování) u žen. Tento dramatický efekt vysvětlujeme tím, že skríníngem zjištěné nádory byly detekovány v 69% ve stádiích IA, či IB, kdežto u kontrolní skupiny bylo 50% detekováno ve stádiu IV.

LDCT bylo hodnoceno pomocí volumetrie uzlů, což se ukázalo, jako postup efektivnější, než měření rozměrů uzlů v NLST. Účastníci studie Nelson podstoupili skríníngové vyšetření následované reskríníngem v případě nejasných uzlíků (objem 50-500mm³) v intervalu 3 měsíců po vstupu do studie. Všechny uzly, které byly následně diagnostikovány jako maligní měly VDT (volume doubling time) nižší, než 232 dní. Z toho můžeme dovozovat, že snížením hranice VDT pro další průběh skríníngových procedur můžeme snížit počet falešně pozitivních výsledků.

Mimo jasně pozitivních výsledků však skríníng přináší i řadu problémů, které popíšeme v naší prezentaci. Tím nejvýznamnějším je nepochybně obrovské množství falešně pozitivních nálezů na CT tvořící u této populace takzvaný overdiagnosis efekt. Tato systematická skríníngová chyba hrozí zbytečným léčením a spojenou morbiditou a mortalitou u nálezů, které by jinak nevedly ke snížení přežití pacientů. V NLST byla overdiagnosis 19%. Z toho vyplývá řada medicínských i etických problémů. Nejjednodušeji se dají vyjádřit následujícím jednoduchým vyčíslením. Na každou nádorovou smrt, které zabráníme časným diagnostikováním plicní rakoviny vytvoříme 320 případů „overdiagnózy“. Futilní vyšetřování těchto případů vytváří etický, ekonomický i medicínský problém velkého rozsahu. Zkoumáme tedy nové metody zužování skríníngové skupiny a evaluace CT zobrazení, které nežádoucí efekty skríníngu sniží. Jako nejnadějnější z nich se jeví zužování skríníngové skupiny pomocí analýzy vydechovaného vzduchu, či spirometrického vyšetření. Chronická obstrukční plicní nemoc je totiž asociována se zvýšeným rizikem rozvoje plicní rakoviny, u mužů je FEV₁ nižší, než 70% spojeno s 2.23

x zvýšeným rizikem a u žen je to 3,94x vyšší riziko (4)

Existují již také metody, které dokáží vcelku dobře definovat riziko rekurence plicní rakoviny na základě molekulární biologie (5).

Z hlediska vlastního CT hrudníku bude pravděpodobně nejvhodnějším způsobem volumetrické zpracování LDCT podobným způsobem, jak bylo prováděno ve skrínigové studii Nelson (6). Problémem je však vysoká variabilita hodnotících technik i výsledků. Účastníci studie Nelson podstoupili skrínigové vyšetření následované reskrínigem ve případě nejasných uzlíků (objem 50-500mm³) v intervalu 3 měsíců po vstupu do studie. Všechny uzly, které byly následně diagnostikovány jako maligní měla VDT (volume doubling time) nižší, než 232 dní. Z toho můžeme dovozovat, že snížením hranice VDT pro další průběh skrínigových procedur můžeme snížit počet falešně pozitivních výsledků. Pro další biologické chování léze je však bohužel důležitý i její typ. Subsolidní léze, které rozdělujeme na částečně solidní a GGO (ground glass opacities) mají velmi pomalý růst a tedy i VDT. U těchto lézí je invazivní vyšetřování indikováno v případě, že GGO je větší, než 2 cm (pak reprezentuje minimálně invazivní adenokarcinom), nebo pokud částečně solidní uzel obsahuje solidní složku, která je větší, než 5 mm, což většinou představuje invazivně se chovající adenokarcinom. Podle současných doporučení Evropské Respirační Společnosti a Evropské společnosti pro Radiologii by měl skrínig plicní rakoviny probíhat v komplexních, longitudinálních programech se zajištěnou kontrolou kvality a to pouze v multidisciplinárních centrech vybavených pro práci s nízkodávkovaným CT, počítačovým hodnocením plicních uzlů a schopných pracovat s pacienty s pozitivními výsledky skrínigu. Toto doporučení se však již neomezuje na klinické zkoušky, ale je již pro běžnou klinickou praxi. Je nutné se nadále věnovat zejména redukci efektivní radiační dávky užíváním rekonstrukčních algoritmů jako například iterativní rekonstrukce, práci s modely a rozvíjet volumetrická zpracování. Zařazení patientských dat do kontrolovaného centrálního registru (imagebank) je další nutnou podmínkou skrínigové práce.

Velmi důležitý je údaj o optimálním skrínigovém intervalu, který můžeme získat zejména zpracováním dat studie Nelson. Ukazuje se, že prodlužování skrínigového intervalu (v Nelson trialu je to 1 rok, 2 roky a 2,5 roku) přináší stacionární incidenci diagnostikovaných nádorů na skrínigové kolo (0,8%), ale přitom zhoršení průměrného stádia nově diagnostikovaných tumorů v posledním kole skrínigu (tedy po intervalu 2,5 let). V této studii zvolený interval 2,5 roků je tedy jednoznačně příliš dlouhý a skrínig bude zůstat na NLST intervalu 12 měsíců mezi skrínigovými koly. Dalším problémem je fakt, že většina výzkumu je zaměřena na plicní uzly, které jsou detekovány na začátku skrínigu. Nové uzly jsou reportovány v různých studiích inkonzistentně i když jejich význam je dosti významný. Studie ELCAP, I-ELCAP, PLuSS a Mayo trial prokázaly roční incidenci nových uzlů 3,4-13%. Tyto nové uzly jsou z logiky věci rychle rostoucí a údaje, které máme zatím k dispozici ukazují, že pravděpodobnost malignity u takového nově se objevivšího uzlu je 1,6-7,5%. Proto bude asi nutné pro tyto nové uzly zvolit nižší objemový limit, než u prvního kola skrínigu. Z modelů, které si kladou za cíl rozlišit mezi maligními a benigními uzly jsou nejcitovanější model McWilliamsové a model American College of Radiology, která v roce 2014 uveřejnila svůj Lung- RADS model. Lung-RADS model je nejcitovanější vzhledem k tomu, že je používán v prakticky všech amerických skrínigových centrech. Zahrnuje 5 kategorií, které určují typ léze a její následující management určený typem léze, její velikostí a rychlostí růstu.

Pro skrínig se tedy zdá být nejdůležitější správná selekce pacientů a nové skrínigové programy by měla vždy zahrnovat nikoli 2D, ale 3D analýzu obrazu. Pro správné rozhodování o jednotlivých případech je pak nezbytná existence multidisciplinárních týmů.

Chronická obstrukční plicní nemoc je asociována se zvýšeným rizikem rozvoje plicní rakoviny, u mužů je FEV₁ nižší, než 70% spojeno s 2,23x zvýšeným rizikem a u žen je to 3,94x vyšší riziko (4)

Existují již také metody, které dokáží vcelku dobře definovat riziko rekurence plicní rakoviny

na základě molekulární biologie (5,6). Jednou z perspektivních metod je analýza výdechového vzduchu, respektive jeho kondenzátu v kapalně formě. Proteomická analýza kondenzátu vydechaného dechu (EBC) je neinvazivní metoda, která detekuje přítomnost nepatrných množství biomarkerů vyprchaných z respiračního systému s bezkonkurenční přesností. Podobně jako analýza moči, výsledky EBC pravděpodobně odrážejí různé patofyziologické stavy dýchacího systému a případně i dalších orgánů. Změny proteomu kondenzátu vydechaného dechu mohou dokonce předcházet klinickému vývoji a změnám séra za různých plicních podmínek, jako je akutní zánět nebo zhoršení. V předchozím projektu AZV naše skupina identifikovala 3 různé kombinace proteinových biomarkerů (3-10 různých bílkovin, respektive jejich peptidů), které spolehlivě rozliší plicní karcinom od zdravých jedinců i pacientů s CHOPN. Těchto výsledků bylo dosaženo na několika stovkách pacientů s plicními chorobami a s použitím technik hmotnostní spektrometrie. V tomto předkládaném projektu předpokládáme zavést na identifikované proteiny/peptidy metody cílené hmotnostní spektrometrie, kterými podstatně zvýšíme citlivost detekce ve vydechaném vzduchu, zpřesníme kvantifikaci peptidů a celá analýza bude více propustná – budeme schopni reálně analyzovat tisíce vzorků. Tyto vzorky odebrané při LDCT vyšetření budou korelovány s radiologickým nálezem i finální diagnózou. Budeme vyhodnocovat sensitivitu a specifitu testu ve srovnání s LDCT a to pro primární diagnostiku nemoci i pro triáž pacientů s plicními uzly. Pokud se tedy prokáže v této prospektivní klinické studii, že vyšetření EBC je proveditelné a klinicky přínosné, mohly by významným způsobem usnadnit skrínink plicní rakoviny v praxi.

Cíle projektu:

- validovat nově identifikované biomarkery rakoviny plic v dechovém kondenzátu pro diagnostiku i triáž plicních uzlů (maligní versus benigní),
- dále nastavit mechanismy fungování skrínigového centra plicní rakoviny,
- validovat indikátory kvality skríningu LDCT pro Českou republiku,
- stratifikovat kohortu probandů tak, aby byl optimalizovaný výstup skrínigových aktivit.

Cíl a metodika zkoumání

Cílem výzkumu je nastavení mechanismu fungování několika skrínigových center, validace biomarkerových podpisů ve vydechaném vzduchu pro primární diagnostiku rakoviny plic anebo pro triáž pozitivních plicních uzlů a nastavení ideálních vstupních kritérií a metod dalšího managementu pacientů s pozitivním skrínigovým výsledkem v podmínkách ČR. Dalším zkoumaným jevem bude také efekt screeningu na náklady spojené s diagnostikou a léčbou plicní rakoviny.

Metodika

Bude konstituována skupina pro skrínig plicní rakoviny při VFN, MOÚ, Plicní ambulanci Brandýs nad Labem, FNOL, Nemocnici AGEL Ostrava-Vítkovice a.s. a Nemocnici Nymburk s.r.o. Skupina bude sestávat ze tří spolupracujících jednotek - klinické, radiologické a chirurgické. Jednotka klinická bude zodpovídat za správnost indikace skrínigu, diagnostické procesy u pozitivně skrínovaných pacientů, sběr dat, indikaci k chirurgickým zákrokům a indikaci k intervenci nikotinismu. Jednotka radiologická odpovídá za správný protokol ultra low dose CT, hodnocení nálezu (2 nezávislá hodnocení u každého setu scanů), provozování a správu imagebanky. Chirurgická jednotka zodpovídá za provádění resekčních výkonů u indikovaných pacientů dle protokolu ERAS za daných kvalitativních standard. Všechny jednotky vytvoří ve vzájemné spolupráci algoritmizované postupy pro vlastní skrínigové vyšetření i pozitivně skrínované pacienty.

Skupina se bude scházet formou multidisciplinárního semináře, na kterém bude hodnotit pokroky programu a další postup u pozitivně skrínovaných pacientů včetně formalizovaného zápisu.

Do studie budou zařazeni probandi v celkovém počtu ideálně 3200 (minimálně 2500). Bude se jednat o probandy s vysokým rizikem vzniku plicní rakoviny. Skupina bude sledována po dobu 5 let, interim výsledky budou prezentovány po 3 letech. Probandi s vysokým rizikem budou vyšetřeni spirometrií, bude jim odebrán plicní kondenzát prostou neinvazivní metodou založenou na volném vydechování po dobu několika minut do chladiče, ve kterém dojde ke zkapalnění. Vyšetření bude doplněno odběrem žilní krve pro laboratorní a molekulárně-genetické vyšetření. Ze vzorku krve bude izolována a archivována genomická DNA, celková RNA a plazma. Z archivovaných vzorků budou prováděny cílené analýzy změn z DNA (např. varianty v kandidátních genech, analýza CNV, metylační status aj.), v RNA (např. hladiny ncRNA, splicingové varianty, fúzní geny aj.), proteinech a metabolitech (např. hladiny specifických proteinů, postranlační modifikace aj.), které by umožnily časnou diagnostiku nádorů plic a jejich odlišení od nezhoubných plicních uzlů ze vzorku krve. Vzorek krve bude také sloužit jako validační prvek k dechovému kondenzátu. Dále budou probandi sledováni intervenčně pomocí LDCT (ultranízkodávkované výpočetní tomografie) dle uvedeného standardu po 12 měsících za účelem posouzení objemových změn uzlu. Současně dojde i k opakovanému odběru plicního kondenzátu a vzorku krve za stejným účelem. Při nalezení uzlu a vysokém podezření na plicní tumor bude následovat ověření ložiska, dle lokalizace pomocí navigované bronchoskopie, transparietální biopsie pod CT či UZ kontrolou či chirurgické ověření. Většina lézí diagnostikovaná skríníngem jsou drobné periferní plicní uzly. Předpokládáme, že asi 5% pozitivně skrínovaných podstoupí chirurgický výkon. Před každým chirurgickým výkonem je dle vnitřního protokolu hrudního centra nutné provést PET/CT a bronchoskopické vyšetření. Při potvrzení nálezu karcinomu následuje terapie dle standardu. Při nově zachyceném intersticiálním plicním procesu proběhne vyšetřovací program dle diagnostického standardu. Každému aktivnímu kuřákovi vyšetřovaný pomocí LDCT nabídneme minimálně jednu protikuřáckou intervenci vedenou lékařem.

	Návštěva 1 – D 0	Návštěva – M 12	Návštěva – M 24 ⁵	Návštěva – M 36	Návštěva – M 48 ⁵	Návštěva – M 60	Neplánovaná návštěva ⁴
Splnění vstupních kritérií	X	-	-	-	-	-	-
Informovaný souhlas	X	-	-	-	-	-	-
Anamnestické údaje	X						
Vitální znaky, fyz. vyšetření	X	X	X	X	X	X	X
Spirometrie	X	X	X	X	X	X	X
Odběr plicního kondenzátu ¹	X	X	X	X	X	X	X
Odběr krve – Biomarkery ²	X	X	X	X	X	X	
LDCT ⁶	X	X	X	X	X	X	X
Bronchoskopie, biopsie chir.výkon ³	x	x	x	x	x	x	X

¹odvoz vzorků kurýrem na suchém ledu v dohodnutém intervalu

²odvoz vzorků kurýrem ihned po odběru

³ dle indikace

^{4,5} návštěvy ve studii budou kopírovat Populační pilotní program časného zachytu karcinomu plic^{*} a Národní radiologické standardy a indikační kritéria^{**} – vyšetření výpočetní tomografií v rámci pilotního programu časného zachytu karcinomu plic.

V případě negativního nálezu na předchozí návštěvě neproběhne Návštěva M24 a M48. V případě neurčitěho nálezu na předchozí návštěvě Návštěva M24 a M48 proběhne. V případě pozitivního nálezu na předchozí návštěvě bude četnost LDCT/studijních návštěv v souladu s doporučením pneumologa, tedy mohou být potřeba Neplánované návštěvy. V případě neurčitěho výsledku LDCT na Návštěvě 1 bude uděláno kontrolní LDCT v rámci Neplánované návštěvy již za 3 měsíce, respektive pro Následné návštěvy a typ uzlu N3 již za 6-8 týdnů.

⁶ Do studie mohou být zařazeni i pacienti přicházející na CT hrudníku z důvodu jiného incidentního nálezu.

^{*}<https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/2022/01/Metodika-realizace-populacniho-pilotniho-programu-casneho-zachytu-karcinomu-plic.pdf>

^{**}https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/03/Vestnik-MZ_3-2021.pdf