

**Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni**

Onkologická a radioterapeutická klinika LF UK v Plzni a FN Plzeň

Habilitační práce

**Vybrané aspekty systémové onkologické léčby pacientů
s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic**

Vědní obor: Onkologie

Plzeň 2017

MUDr. Ondřej Fiala, Ph.D.

Obsah

Obsah.....	2
Úvod.....	4
Způsob zpracování habilitační práce.....	5
Přehled publikací předkládaných v rámci habilitační práce.....	6
Současný stav problematiky.....	9
Epidemiologie karcinomu plic.....	9
Etiopatogeneze a rizikové faktory.....	10
Histopatologická klasifikace.....	10
Diagnostika.....	12
Chirurgická léčba a radioterapie u NSCLC.....	14
Význam systémové onkologické léčby NSCLC.....	17
Možnosti systémové onkologické léčby NSCLC.....	18
Postavení systémové onkologické léčby u NSCLC a vymezení základních pojmů.....	18
Chemoterapie v léčbě NSCLC.....	19
Cílená léčba NSCLC.....	25
Hlavní terče cílené léčby u NSCLC.....	25
Preparáty cílené léčby užívané v léčbě NSCLC.....	30
Imunoterapie v léčbě NSCLC.....	51
Základní mechanismy protinádorové imunity.....	51
Mechanismy úniku nádorových buněk imunitním mechanismům.....	53
Základní principy protinádorové imunoterapie a její formy.....	53
Preparáty imunoterapie užívané u NSCLC.....	57
Paliativní systémová onkologická léčba pacientů s pokročilým NSCLC v současné klinické praxi.....	63
Léčba první linie.....	64
Léčba druhé linie.....	65
Léčba třetí linie a v dalších liniích.....	66
Personalizovaná onkologická léčba a biomarkery.....	67
Prediktivní faktory pro EGFR-TKI.....	68
Prediktivní faktory pro ALK inhibitory.....	72
Význam histologického typu pro výběr pacientů k vyšetření mutací EGFR, ALK a ROS1.....	73
Histologický typ jako prediktivní faktor pro cílenou léčbu.....	73
Prediktivní faktory pro chemoterapii.....	74
Prediktivní faktory pro imunoterapii.....	76
Okruh I: Význam molekulárně-genetických biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC.....	78
Komentář - Okruh I.....	79
Souhrn – Okruh I.....	84

Okruh II.: Význam sérových biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC	85
Komentář - Okruh II.....	86
Souhrn – Okruh II	90
Okruh III.: Další vybrané aspekty léčby pacientů s pokročilým NSCLC	91
Komentář - Okruh III	92
Souhrn – Okruh III	96
Závěr.....	97
Seznam literatury.....	98
Seznam používaných zkratk	114
Seznam obrázků	117
Seznam tabulek	119
Vědecká činnost autora	120

Poděkování

Chtěl bych velice poděkovat celé řadě kolegů, nejen z mého pracoviště, s nimiž jsem měl, nebo stále mám tu čest spolupracovat na vytváření vědeckých projektů a přípravě publikací a od nichž jsem se během této spolupráce mohl mnohé naučit. Jmenovitě bych rád poděkoval přednostovi Onkologické a radioterapeutické kliniky prof. MUDr. Jindřichu Fínkovi, Ph.D., MHA, za podporu vědecké činnosti a přednostovi Kliniky pneumologie a ftyzeologie prof. MUDr. Miloši Peškovi, CSc., za příkladné vedení mého doktorského studia. V neposlední řadě patří velký dík celé mé rodině a přítelkyni za trpělivost a podporu.

Úvod

Karcinom plic patří mezi nejčastější zhoubné nádory a dlouhodobě zaujímá přední místa v mortalitě na nádorová onemocnění v České republice i celosvětově. Jeho incidence má stále rostoucí trend, který je v našich podmínkách, patrný zejména v ženské populaci. Plicní karcinomy je možné z hlediska histopatologického, rozdělit na dvě základní skupiny, malobuněčný karcinom plic (SCLC) a nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC). Nejčastějším typem je NSCLC, který zaujímá asi 80-85% případů. Nepříznivým faktem je, že karcinom plic je velmi často diagnostikován v pokročilém stadiu, které nedovoluje poskytnout pacientovi léčbu s kurativním záměrem v podobě radikálního chirurgického výkonu, případně radioterapie. Prognóza pacientů s pokročilým stadiem onemocnění je velmi závažná a možnosti léčby jsou značně limitované.

Pokroky v oblasti molekulární biologie a genetiky v posledních letech vedly k porozumění některým klíčovým patofyziologickým mechanismům kancerogeneze, proliferace, metastazování a nádorové imunologie. Na základě těchto poznatků byla vyvinuta řada moderních léků, jejichž zavedení do klinické praxe přináší významné prodloužení přežití a zlepšení kvality života pacientů s pokročilým plicním karcinomem. Největšího pokroku bylo dosaženo zejména v léčbě pokročilého NSCLC. V současné době probíhá celosvětově intenzivní výzkum cílený na hledání vhodných biomarkerů, které je možné využít k předpovědi prognózy a efektu systémové onkologické léčby. Identifikace takových biomarkerů umožňuje zvolit optimální léčebnou strategii pro daného pacienta, tedy vybrat takovou systémovou léčbu, u které je vysoká pravděpodobnost, že z ní bude pacient dobře profitovat. Takový princip výběru systémové léčby je základem konceptu personalizované onkologické léčby. Snahou této práce je podat ucelený pohled na systémovou léčbu NSCLC a cestou komentovaných vlastních publikovaných prací přispět k vysvětlení prediktivního a prognostického významu vybraných biomarkerů a dále zodpovědět některé, zatím stále otevřené otázky, týkající se problematiky systémové onkologické léčby NSCLC.

Způsob zpracování habilitační práce

Předkládaná habilitační práce sestává z úvodní části zaměřené na popis současného stavu problematiky nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) s důrazem zejména na možnosti systémové onkologické léčby, hlavní část práce je tvořena vlastním komentovaným souborem prací publikovaných v recenzovaných zahraničních i tuzemských časopisech, které jsou zaměřeny na pochopení vybraných aspektů systémové onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Z praktických důvodů jsou publikace v plném znění přiloženy jako příloha. Publikované práce vznikly díky rozsáhlé spolupráci Onkologické a radioterapeutické kliniky FN a LF UK v Plzni, Kliniky pneumologie a fizeologie FN a LF UK v Plzni, Výzkumného ústavu Genomac v Praze, Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy Univerzity v Brně a Biomedicínského centra LF UK v Plzni.

Soubor předkládaných prací se skládá celkem z 26 publikací, z toho u 23 z nich je habilitant prvním autorem. 21 prací bylo publikováno v časopisech databáze Thomson Reuters s tzv. „impact factor“ dle Journal Citation Report a 5 prací bylo publikováno v tuzemských recenzovaných časopisech.

Celkově je habilitant spoluautorem 2 kapitol v monografiích, autorem či spoluautorem 40 prací publikovaných v časopisech s impakt faktorem a 14 prací publikovaných v recenzovaných časopisech. Z toho, je habilitant prvním autorem 23 publikací s impakt faktorem a 7 publikací v recenzovaných časopisech.

Předkládané práce jsou tématicky členěny do tří okruhů:

Okruh I: Význam molekulárně-genetických biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

Okruh II: Význam sérových biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

Okruh III: Další vybrané aspekty systémové léčby pacientů s pokročilým NSCLC

Cílem všech uvedených prací bylo přispět k objasnění prognostického a/nebo prediktivního významu široké palety potenciálních biomarkerů u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, které by bylo možné využít k individualizaci léčebného přístupu a volbě optimální terapie pro daného pacienta (Okruhy I a II). Dalším cílem bylo přinést informace o efektivitě některých léčiv a postupů užívaných u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC v podmínkách běžné klinické praxe (Okruh III).

Podíl habilitanta na vzniku těchto prací odpovídá jeho zařazení a pořadí v seznamu autorů. Jeho podíl spočíval v různé míře v účasti na návrhu designu studie, volbě metodických přístupů, získávání klinických dat, podílu na statistické analýze, interpretaci výsledků a přípravě publikací.

Přehled publikací předkládaných v rámci habilitační práce

Okruh I.: Význam molekulárně-genetických biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP1: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Benešová L., Minárik M.: EGFR mutace u pacientů s pokročilým NSCLC. *Klin Onkol*, 2012, 25, 4, s. 267-273.

HP2: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. *Anticancer Res*, 2013, 33, 4, p. 1705-1711.

HP3: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Minárik M., Benešová L., Sorejs O., Svaton M., Bortlíček Z., Kucera R., Topolčan O.: Epidermal Growth Factor Receptor Gene Amplification in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*. 2016 Jan;36(1):455-60.

HP4: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Belsánová B., Minárik M.: The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet*, 2013, 206, 1-2, p. 26-31.

HP5: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Tupý R., Minárik M.: Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem - kazuistika. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2013, 73, 3, s. 105-108.

HP6: Svaton M, Fiala O, Pešek M, Bortlíček Z, Minárik M, Benešová L, Topolčan O.: The Prognostic Role of KRAS Mutation in Patients with Advanced NSCLC Treated with Second- or Third-line Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 3, p. 1077-1082.

HP7: Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2011, 71, 3, s. 100-104.

HP8: Pešek M., Mináriková L., Kopečková M., Belšánová B., Fiala O., Minárik M.: Možnosti testování DNA mutací a DNA metylační analýzy cirkulující volné nádorové DNA (tumor cell-free DNA) izolované z periferní krve nemocných s NSCLC. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2012, 72, 3, s. 137-141.

HP9: Fiala O., Pešek M., Skricková J., Kolek V., Salajka F., Tomisková M., Satanková M., Kultán J., Kulisková J., Svaton M., Hrnčiarik M., Hejduk K., Chloupková R., Topolčan O., Hornychová H., Nová M., Ryska A., Fínek J.: Thyroid transcription factor 1 expression is associated with outcome of patients with non-squamous NSCLC treated with pemetrexed-based chemotherapy. *Tumour Biol*, 2017, 39, 2: 1010428317691186.

Okruh II.: Význam sérových biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP10: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: Predictive Role of CEA and CYFRA 21-1 in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2013, 34, 6, p. 3205-3210.

HP11: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: The Role of Neuron-specific Enolase (NSE) and Thymidine Kinase (TK) Levels in Prediction of Efficacy of EGFR-TKIs in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2014, 34, 9, p. 5193-5198.

HP12: Fiala O., Pesek M., Finek J., Svaton M., Sorejs O., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic Significance of Serum Tumor Markers in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Pemetrexed-based Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 461-466.

HP13: Fiala O., Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Poprach A., Buchler T.: High serum level of C-reactive protein is associated with worse outcome of patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib. *Tumour Biol*, 2015, 36, 12, p. 9215-9222.

HP14: Fiala O., Hosek P., Pesek M., Finek J., Racek J., Buchler T., Poprach A., Hejduk K., Chloupkova R., Sorejs O., Ecksteinova M., Vitovec M., Cizkova K., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic role of serum C-reactive protein in patients with advanced-stage NSCLC treated with pemetrexed. *Neoplasma*, 64, 4, p. 605-610.

HP15: Svaton M., Fiala O., Pesek M., Bruha F., Mukensnabl P., Racek J., Minarik M., Bortlicek Z.: Predictive and Prognostic Significance of Sodium Levels in Patients with NSCLC Treated by Erlotinib. *Anticancer Res*, 2014, 34, 12, p. 7461-7465.

HP16: Fiala O., Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Svaton M., Kucera R., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Chloupkova R., Poprach A., Buchler T.: Change in Serum Lactate Dehydrogenase Is Associated with Outcome of Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2016, 36, 5, p. 2459-2465.

HP17: Fiala O., Pesek M., Finek J., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Sorejs O., Kucera R., Topolcan O.: Serum albumin is a strong predictor of survival in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Neoplasma*, 2016, 63, 3, p. 471-476.

Okruh III.: Další vybrané aspekty léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP18: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Comparison of EGFR-TKI and chemotherapy in the first-line treatment of advanced EGFR mutation-positive NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 4, p. 425-431.

HP19: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krakorova G., Benesova L., Minarik M.: Retreatment with erlotinib of a patient with metastatic NSCLC harboring EGFR mutation: a case report. *Tumori*, 2014, 100, 3, e70-73.

HP20: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Second line treatment in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): comparison of efficacy of erlotinib and chemotherapy. *Neoplasma*, 2013, 60, 2, p. 129-134.

HP21: Fiala O., Pesek M., Finek J., Svaton M., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O. Pemetrexed Versus Erlotinib in the Second-line Treatment of Patients with Advanced-stage Non-squamous NSCLC Harboring Wild-type EGFR Gene. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 447-453.

HP22: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Havel L., Hrnčiarik M., Salajka F., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Erlotinib in the treatment of advanced squamous cell NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 6, p. 676-682.

HP23: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Sequential treatment of advanced-stage lung adenocarcinoma harboring wild-type EGFR gene: second-line pemetrexed followed by third-line erlotinib versus the reverse sequence. *Anticancer Res*, 2013, 33, 8, p. 3397-3402.

HP24: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Ricar J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Skin rash as useful marker of erlotinib efficacy in NSCLC and its impact on clinical practice. *Neoplasma*, 2013, 60, 1, p. 26-32.

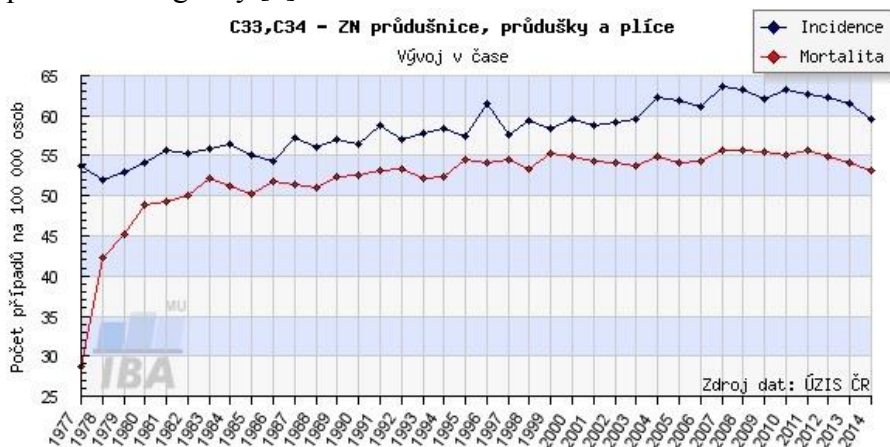
HP25: Fiala O., Pesek M., Finek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Topolcan O.: Statins augment efficacy of EGFR-TKIs in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer harbouring KRAS mutation. *Tumor Biol*, 2015, 36, 8, p. 5801-5805.

HP26: Fiala O., Pešek M., Teřl M., Fínek J., Minárik M., Topolčan O.: Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2015, 75, 3, s. 86-94.

Současný stav problematiky

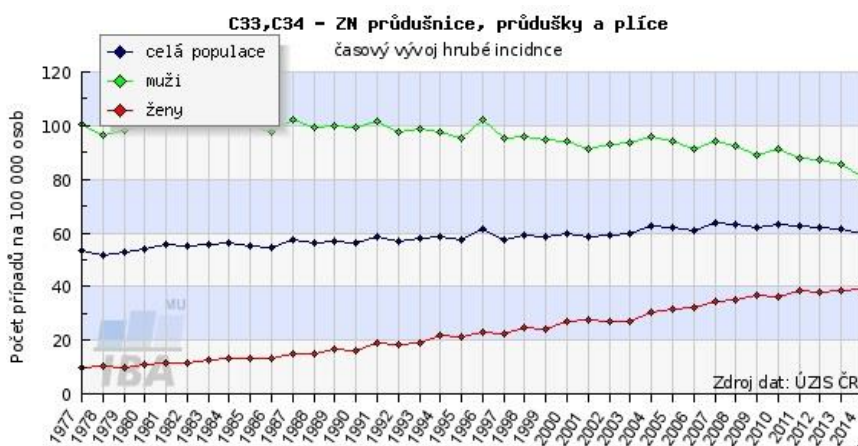
Epidemiologie karcinomu plic

Karcinom plic zaujímá přední místa v incidenci i mortalitě nádorových onemocnění celosvětově, i v České republice. Česká republika je na 13. místě v incidenci plicního karcinomu, která zde v roce 2014 činila 59,5 případů na 100 000 obyvatel. Během posledních let je trend v incidenci mírně vzestupný, trend v mortalitě je setrvalý (**Obrázek 1**). U mužů je incidence výrazně vyšší (87,6 na 100 000 obyvatel) oproti ženám (35,8 na 100 000 obyvatel). V posledních letech je trend v incidenci u mužů setrvalý, oproti tomu však dochází k relativně významnému nárůstu incidence u žen (**Obrázek 2**). Nepříznivým faktem je, že karcinom plic je velmi často diagnostikován v pokročilém stadiu, ve více než polovině případů je iniciálně diagnostikován ve IV. klinickém stadiu (**Obrázek 3**). Důsledkem toho je velmi vysoká mortalita, která v roce 2014 činila 53 na 100 000 obyvatel. Plicní karcinom tak patří mezi zhoubné nádory s nejhorší prognózou a pouze kolem 15% ze všech pacientů přežívá déle než pět let od diagnózy [1].



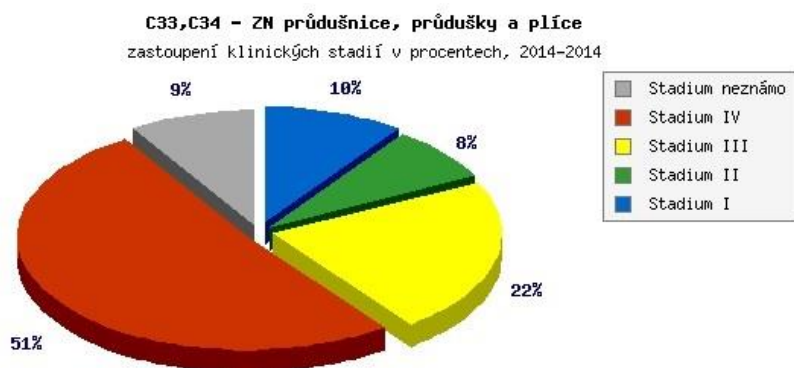
Obrázek 1 – Časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci

Převzato a upraveno podle: DUŠEK, L., et al., 2016 [1].



Obrázek 2 – Časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci podle pohlaví

Převzato a upraveno podle: DUŠEK, L., et al., 2016 [1].



Obrázek 3 – Zastoupení jednotlivých klinických stadií karcinomu plic v naší populaci
Převzato a upraveno podle: DUŠEK, L., et al., 2016 [1].

Etiopatogeneze a rizikové faktory

Dobře známým, nejčastějším etiopatogenetickým faktorem plicního karcinomu je nepochybně kouření tabákových výrobků. Rozsáhlé epidemiologické studie jednoznačně prokázaly, že kuřáci jsou výrazně více ohroženi plicním karcinomem než nekuřáci a míra rizika koreluje s počtem vykouřených cigaret. Faktem je, že zhruba 90% pacientů s plicním karcinomem jsou, nebo byli kuřáci. Určité riziko představuje i pasivní kouření [2-4]. Mezi další etiologické faktory patří expozice azbestu, těžkým kovům, jako je chrom, arzen, berylium, nikl, nebo olovo, organickým rozpouštědly, radonu a ionizujícímu či UV záření [3-5]. Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) je rovněž často asociovaná s rizikem vzniku plicního karcinomu, dokonce bylo zjištěno, že pokles usilovně vydechnutého objemu za první sekundu (*forced expiratory volume*, FEV1) koreluje s mírou rizika vzniku onemocnění. Nabízí se tak i otázka uplatnění chronického zánětu v kancerogenezi. Na druhou stranu, je fakt, že tíže CHOPN, respektive pokles FEV1 je v přímé korelaci s mírou kuřácké zátěže, takže oba jevy lze jen těžko oddělit od sebe [6]. Způsob, intenzita a délka expozice zmíněným etiologickým faktorům zevního prostředí vede k procesu, který označován jako plošná kancerogeneze (*field cancerization*), při níž dochází k postupné kumulaci získaných genetických a epigenetických alterací ve velké ploše slizničního epitelu. Postupně dochází ke vzniku prekancerózních lézí, jako je metaplazie nebo dysplazie, dále pak ke vzniku *carcinoma in situ* (CIS) a v konečné fázi pak, ke vzniku invazivního karcinomu. Význam pro vznik plicního karcinomu má zřejmě i aktivita cytochromů rodiny p-450, které sehrávají významnou roli při metabolismu xenobiotik v organismu. Snížená aktivita těchto enzymů vede ke zvýšenému riziku vzniku plicního karcinomu [7].

Histopatologická klasifikace

Z histopatologického hlediska jsou primární plicní karcinomy rozděleny do dvou základních skupin, které představuje: **malobuněčný karcinom plic** (*Small-cell lung cancer*, SCLC) a **nemalobuněčný karcinom plic** (*Non-small cell lung cancer*, NSCLC). Toto základní rozdělení má zásadní význam, protože jde o nádory výrazně odlišné svým biologickým chováním, z toho pak plyne i odlišný přístup k léčbě těchto onemocnění. NSCLC je nejčastějším histologickým typem, který zaujímá zhruba 85% všech plicních karcinomů.

NSCLC představuje poměrně heterogenní skupinu nádorů, která se dále dělí na několik základních podtypů a to skvamózní karcinom, adenokarcinom, velkobuněčný karcinom, adenoskvamózní karcinom, sarkomatoidní karcinom a karcinom typu slinných žláz. Pokud nelze NSCLC zařadit do žádného z uvedených podtypů, je užíván pojem nespecifikovaný NSCLC (*not otherwise specified*, NOS). Tyto základní podtypy NSCLC lze ještě dále rozdělit na různé varianty (**Tabulka 1**) [8, 9]. V poslední době se ukazuje, že mezi uvedenými histologickými typy NSCLC (zejména pokud srovnáváme adenokarcinom a skvamózní karcinom) jsou významné odlišnosti nejen morfologické, ale liší se i na úrovni genetiky, epigenetiky a proteomiky. Odlišné biologické chování vede k rozdílnému terapeutickému přístupu, respektive volbě systémové léčby [10]. Přesná morfologická diagnóza tak postupně nabývá na významu a stává se pro klinika nepostradatelnou.

Tabulka 1 - Histopatologická klasifikace NSCLC dle WHO

Skvamózní karcinom
Papilární
Světlobuněčný
Bazaloidní
Adenokarcinom
Adenokarcinom, smíšený subtyp
Acinární adenokarcinom
Papilární adenokarcinom
Bronchioloalveolární adenokarcinom
Nemucinózní
Mucinózní
Smíšený mucinózní / nemucinózní
Solidní adenokarcinom s hlenotvorbou
Fetální adenokarcinom
Mucinózní (koloidní) adenokarcinom
Mucinózní cystadenokarcinom
Adenokarcinom z prstenčitých buněk
Světlobuněčný adenokarcinom
Velkobuněčný karcinom
Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom
Kombinovaný velkobuněčný neuroendokrinní karcinom
Bazaloidní karcinom
Lymfoepiteliomu podobný karcinom
Světlobuněčný karcinom
Velkobuněčný karcinom s rabdoidním fenotypem
Adenoskvamózní karcinom
Sarkomatoidní karcinom
Pleomorfní karcinom
Vřetenobuněčný karcinom
Obrovskobuněčný karcinom
Karcinosarkom
Pulmonální blastom
Karcinom typu slinných žláz
Mukoepidermoidní karcinom
Adenoidně cystický karcinom
Epiteliálně myoepiteliální karcinom

Diagnostika

Při prvním kontaktu s pacientem je nezbytná podrobná anamnéza zahrnující aktuální obtíže, historii dalších chronických onemocnění, včetně užívaných léků, alergie, rodinnou anamnézu, kouření tabáku (celková kuřácká zátěž je většinou udávána v podobě tzv. balíčkoroků – *pack-years*), nebo expozici jiným potenciálně významným rizikovým faktorům. Následuje důkladné objektivní klinické vyšetření. Poslechově se na hrudi můžeme často setkat s fenomény, jako jsou pískoty, vrzoty, oslabené nebo vymizelé dýchání, které může vznikat v důsledku atelektázy nebo rozvoje pleurálního výpotku. Důležitou součástí fyzikálního vyšetření je palpce lymfatických uzlin, především v nadklíčcích, na krku a v axilách. Faktem je, že fyzikální nález může být relativně normální i u pacienta s pokročilým maligním onemocněním, i toto zřejmě přispívá k pozdní diagnostice plicních karcinomů. Zobrazovací vyšetření první volby představuje většinou skiagram hrudníku, který je využitelný i pro screening. Běžně je skiagram hrudníku užíván ve dvou projekcích, zadopřední a bočné. Vyšetření počítačovou tomografií (*computed tomography*, CT) poskytuje výrazně větší rozlišení a rovněž možnost prostorového zobrazení. CT dnes představuje „zlatý standard“ pro diagnostiku, dispenzarizaci, i hodnocení efektu probíhající léčby u pacientů s karcinomem plic. Pod CT kontrolou je možné provedení odběru bioptického vzorku transparietální punkcí. Tento postup je většinou volen zejména u pacientů s periferní lokalizací tumoru, který se nedaří verifikovat bronchoskopicky. Z dalších zobrazovacích metod se při diagnostice a stážování plicního karcinomu uplatňují: ultrasonografie (USG) břicha a nadklíčků, k vyloučení metastatického postižení skeletu je běžně využíváno scintigrafické vyšetření. Při podezření na metastatické postižení mozku pak CT, případně magnetická rezonance (MR) mozku. MR je, pro svojí vysokou měknotkáňovou rozlišovací schopnost, vyšetření dobře využitelné k ozřejmení suspektní infiltrace některých významných struktur, jako jsou například velké cévy, bránice atd., což má význam zejména při zvažování chirurgického výkonu. Významný pokrok v diagnostice přinesl rozvoj hybridních zobrazovacích metod jako je PET/CT (pozitronová emisní tomografie, PET), eventuelně PET/MR. Jde o vysoce senzitivní metody, využitelné pro diferenciální diagnostiku solitárních plicních lézí, k posouzení metastatického postižení mediastinálních lymfatických uzlin a přítomnosti zdálených metastáz. Velmi důležitou diagnostickou, ale i terapeutickou metodu představuje bronchoskopie, která umožňuje posouzení rozsahu a vývoje endoskopického nálezu a zejména provedení odběru biotického vzorku, které je možné provést přímo z tumoru, při jeho endobronchiální lokalizaci, nebo transbronchiální punkcí. Z terapeutických intervencí bronchoskopie nabízí možnost bronchiální toalety, stavění krvácení, brachyterapie, kryodestrukce, elektrokoagulace a zavádění stentů [11, 12]. Mezi moderní metody, které významně rozšiřují možnosti bronchoskopie patří endobronchiální USG (EBUS), která umožňuje přesné zacílení transbronchiální biopsie a dále elektromagneticky navigovaná bronchoskopie, která umožňuje proniknout blíže k periferně lokalizovaným lézím [13-15]. Mezi chirurgické techniky, které se běžně uplatňují při diagnostice karcinomu plic, patří videomediastinoskopie (VMS) a videotorakoskopie (VTS). Při diagnostice, dispenzarizaci a sledování efektu léčby můžeme využít i některých sérových onkomarkerů. U plicního karcinomu jsou nejčastěji užívány tyto sérové onkomarkery: CYFRA 21-1, tkáňový

polypeptidový antigen (TPA), tkáňový polypeptidový specifický antigen (TPS), karcinoembryonální antigen (CEA), neuron specifická enoláza (NSE), pro-gastrin releasing peptid (pro-GRP), chromogranin A a Monototal. Pro volbu optimální léčebné strategie je zásadně důležité přesné stanovení rozsahu nádorového postižení a určení klinického stadia onemocnění, neboli stážování (*staging*). Pro staging je v současné době užívána 7. revize TNM klasifikace, podle níž jsou maligní nádorová onemocnění rozdělena do čtyř stádií, při čemž u karcinomu plic mají stadia I, II a III dvě podstádia, A a B (**Tabulka 2 a 3**) [16].

Tabulka 2 - TNM staging – kritéria pro hodnocení

T: primární nádor	
TX	Primární nádor nelze hodnotit, ale přítomnost nádoru signalizují nádorové buňky ve sputu nebo bronchiálním výplachu, nicméně nádor sám nebyl prokázán zobrazovacími vyšetřeními ani bronchoskopicky
T0	Bez příznaků přítomnosti primárního nádoru
Tis	Karcinom in situ
T1	Nádor ≤ 3 cm v největším rozměru a je obklopen plicní tkání nebo viscerální pleurou. Bronchoskopicky je limitován po lobární bronchus, tzn. nádor se nešíří do hlavního bronchu
T1a	Nádor ≤ 2 cm v největším rozměru
T1b	Nádor > 2 cm a zároveň ≤ 3 cm v největším rozměru
T2	Nádor je > 3 cm a zároveň ≤ 7 cm nebo splňuje nejméně jedno z následujících kritérií (T2 nádor s některým z těchto kritérií je klasifikován jako T2a jestliže ≤ 5 cm) · postihuje hlavní bronchus do vzdálenosti ≥ 2 cm distálně od kariny · invaze do viscerální pleury · podmiňuje atelektázu nebo obstrukční bronchopneumonii v rozsahu menším než je celá plice
T2a	Nádor je > 3 cm ale ≤ 5 cm v největším rozměru
T2b	Nádor je > 5 cm ale ≤ 7 cm v největším rozměru
T3	Nádor je > 7 cm nebo nádor jakékoli velikosti se šířením do: · hrudní stěny · bránice · frenického nervu · mediastinální pleury · parietálního perikardu · hlavního bronchu ve vzdálenosti < 2 cm od kariny, kterou však nepostihuje · nádor podmiňující atelektázu nebo obstrukční bronchopneumonii kompletně celé plice · nádor vytváří oddělený/é (satelitní) nádorový/é uzel/uzly ve stejném laloku
T4	Nádor jakékoli velikosti se šířením do: · mediastina · srdce · velkých cév · průdušnice · nervus laryngeus recurrens · jícnu · obratlových těl · bifurkace kariny · oddělený/é nádorový/é uzel/uzly v jiném ipsilaterálním laloku
N: regionální lymfatické uzliny	
NX	Regionální lymfatické uzliny není možné hodnotit
N0	Bez přítomnosti metastáz v regionálních lymfatických uzlinách
N1	Metastázy v ipsilaterálních peribronchiálních a/nebo ipsilaterálních hilových uzlinách a intrapulmonálních uzlinách včetně postižení přímým prorůstáním primárního nádoru
N2	Metastázy v ipsilaterálních mediastinálních a/nebo subkarinních lymfatických uzlinách
N3	Metastázy v: · kontralaterálních mediastinálních uzlinách · kontralaterálních hilových uzlinách · v ipsilaterálních nebo kontralaterálních skalenových nebo supraklavikulárních lymfatických uzlinách · v ipsilaterálních nebo kontralaterálních skalenových nebo supraklavikulárních lymfatických uzlinách

M: vzdálené metastázy	
MX	Vzdálené metastázy není možné hodnotit
MO	Bez přítomnosti vzdálených metastáz
M1a	Separátní nádorové nodul(y) v kontralaterálním laloku, maligní pleurální nebo perikardiální výpotek
M1b	Vzdálené metastázy

Tabulka 3 - TNM staging – rozdělení podle klinických stadií

	T	N	M
Stadium IA	T1a, T1b	N0	M0
Stadium IB	T2a	N0	M0
Stadium IIA	T2b	N0	M0
	T1a, T1b	N1	M0
	T2a	N1	M0
Stadium IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T1A, T1b, T2a, T2b	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	N0, N1	M0
Stadium IIIB	T4	N2	M0
	jakékoli T	N3	M0
Stadium IV	jakékoli T	jakékoli N	M1

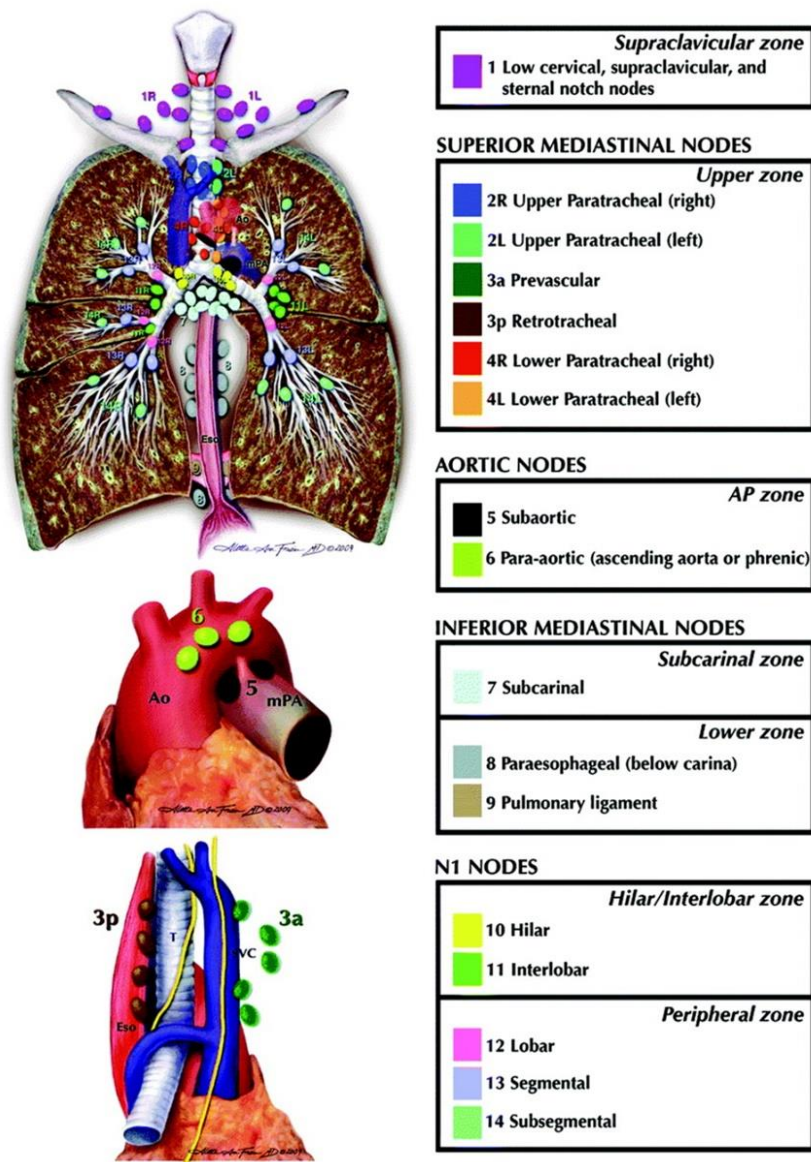
Chirurgická léčba a radioterapie u NSCLC

Provedení radikálního chirurgického odstranění zhoubného nádoru, eventuelně doplněné o podání adjuvantní chemoterapie, poskytuje pacientům s časným stadiem NSCLC jednoznačně nejlepší vyhlídky na dlouhodobé přežití. Chirurgická léčba je jednoznačnou metodou volby pro pacienty ve stadiu I, II a IIIA. Radikální chirurgický výkon u NSCLC představuje anatomická resekcce (*sleeve lobektomie*) v podobě lobektomie a pneumonektomie, případně bilobektomie vpravo. Jako standardní postup je, kromě klasické lobektomie, rovněž považována lobektomie cestou videem asistované thorakoskopie (*video-assisted thoracoscopic surgery*, VATS). Radikální systematická lymfadenektomie není, v současné době, v Evropě standardně užívaným postupem, je prováděna diagnostická exstirpace lymfatických uzlin z hlavních uzlinových etáží podle lokalizace primárního ložiska nádoru podle doporučení Evropské společnosti hrudních chirurgů (*European Society of Thoracic Surgeons*, ESTS) (**Obrázek 4**) [17, 18]. Rozsah chirurgického výkonu je nutné předem důkladně posoudit, nejen s ohledem na rozsah postižení vlastním nádorem, ale také s ohledem na velikost a funkční kapacitu potenciálně reziduálního plicního parenchymu. U ventilačně nebo interně kompromitovaných pacientů je možné zvážit provedení anatomické resekcce menšího rozsahu v podobě segmentektomie nebo klínovité resekcce. Nicméně, takto volený způsob léčby nelze považovat, v současné době, za standardní z hlediska onkochirurgické radikality. Před rozhodnutím o chirurgickém výkonu je nezbytné pečlivé posouzení celkového zdravotního stavu pacienta, včetně věku a případných komorbidit. Přežívání operovaných pacientů závisí především na klinickém stadiu onemocnění, které tak představuje zásadní

prognostický faktor. Pětileté přežití pacientů s NSCLC, kteří podstoupili radikální chirurgický výkon, se pohybuje mezi 67 % u stadia IA a 23 % u stadia IIIA [19].

Radioterapie je v léčbě NSCLC běžně užívána v různých indikacích. U pacientů s lokoregionálně pokročilým stádiem onemocnění (stádium IIIB, případně IIIA), které není řešitelné chirurgicky, představuje radikální (kurativní) radioterapie základní léčebnou metodu. Při radikální radioterapii jsou aplikovány relativně vysoké dávky záření (60-80 Gy v průběhu 6 až 8 týdnů), většinou v kombinaci s chemoterapií v podobě konkomitantní nebo sekvenční chemoradioterapie. Nejlepších výsledků je dosahováno léčbou konkomitantní chemoradioterapií, která je prokazatelně účinnější než radioterapie samotná nebo sekvenční chemoradioterapie (radioterapie následující po chemoterapii) [20]. Radioterapie se v těchto případech aplikuje ve standardní normofracionaci 60-66 Gy. Radioterapie plicních karcinomů dosahuje v posledních letech významného pokroku. Velmi přínosné je zavádění řady technických inovací a moderních metod jako je radioterapie s modulovanou intenzitou (*intensity modulated radiotherapy, IMRT*) nebo obrazem řízená radioterapie (*image guided radiotherapy, IGRT*). Při plánování radioterapie se významným způsobem uplatňují i hybridní zobrazovací metody jako PET/CT nebo PET/MR [21]. Možnost dávkové eskalace představuje v současnosti otevřenou otázku, zejména protože moderní technologie aplikace záření a jejího plánování umožňují snížení toxicity na základě dozimetrické výhody. Metoda IMRT prokázala významné snížení toxicity ve srovnání s klasickou 3D konformní radioterapií (*3D conformal radiation therapy, 3D CRT*), které dává možnost eskalace dávky [22, 23]. Další dozimetrické výhody a zřejmě potenciál dávkové eskalace přináší i rozvoj protonové radioterapie [24]. K významným pokrokům v moderní radioterapii plicních karcinomů patří rovněž významný rozvoj v oblasti stereotaktické radioterapie (*stereotactic ablative radiotherapy, SABR*, též *stereotactic body radiation therapy, SBRT*), která spočívá v aplikaci vysoké dávky záření v malém počtu frakcí s vysokou přesností. Jde o vysoce efektivní léčbu vhodnou pro časná stadia NSCLC, která dosahuje 90-95% lokální kontroly po třech letech a více než 70% tříletého přežití [25]. Standardně je tato metoda užívána v léčbě pacientů se stadiem I, kteří odmítnou nebo, z různých důvodů, nemohou radikální chirurgickou léčbu podstoupit. Recentní poznatky ukazují, že její efekt u stadia I je zřejmě srovnatelný s léčbou chirurgickou a v současné době probíhají randomizované klinické studie srovnávající efektivitu stereotaktické radioterapie s chirurgickou léčbou u potenciálně operabilních pacientů [25, 26]. Konkomitantní chemoradioterapie se u pacientů se stadiem I standardně nepoužívá. Pohled na kombinaci radioterapie a chirurgické léčby v podobě neoadjuvantní nebo adjuvantní léčby je komplikovaný a v mnoha směrech kontroverzní. V současné době je spíše odklon od neoadjuvantní konkomitantní léčby chemoradioterapií. Vyjímkou je léčba nádorů horního sulku (*superior sulcus tumour*), označovaných jako Pancoastův tumor, kde má neoadjuvantní konkomitantní chemoradioterapie jednoznačnou indikaci. Neoadjuvantní chemoradioterapie je v některých případech zvažována při uzlinovém postižení stadia N2, kde může představovat prostředek umožňující následnou chirurgickou léčbu. Jde o léčbu, která je zvažována u pacientů s potenciálně resektabilním nálezem, řešitelným lobektomií. V takovém případě jsou většinou užívány dávky 45-54 Gy [26]. U pacientů s N2 postižením, potenciálně řešitelným pneumonektomií, je preferovaným postupem samostatná chemo-radioterapie do celkové dávky 70 Gy. Adjuvantní radioterapie je v některých případech používána u pacientů

se stadiem N2, které je zjištěno po operaci na základě chirurgického stagingu. V takovém případě následuje léčba radioterapií až po dokončení adjuvantní chemoterapie, většinou do celkové dávky 45-54 Gy [25]. Při paliativní radioterapii jsou aplikovány nižší dávky záření a jejím cílem je zejména potlačit nebo zmírnit obtíže nemocného. Paliativní radioterapie je nejčastěji indikována k léčbě syndromu horní duté žíly, metastatického postižení mozku, skeletu, nebo u kožních metastáz [27].



Obrázek 4 – Mapa hrudní lymfatiky
Převzato podle: Rusch, V., W., et al., 2009 [28].

Význam systémové onkologické léčby NSCLC

Karcinom plic je velmi často diagnostikován v pokročilém stádiu, které již nedovoluje provedení radikálního chirurgického odstranění nádoru, navíc významná část pacientů nemůže takový výkon podstoupit z důvodu četných komorbidit. V klinické praxi je tak v České republice odoperováno jen asi 12 % z celkového množství všech diagnostikovaných pacientů a z toho pouze u cca 6–7 % je proveden radikální chirurgický výkon, který již nevyžaduje doplnění další onkologickou léčbou v podobě chemoterapie, eventuálně radioterapie [29]. Za pozornost jistě stojí i fakt, že zhruba polovina pacientů je diagnostikována ve stadiu metastatického onemocnění (stadium IV), kde jedinou možností léčby představuje právě systémová onkologická léčba [1].

Pojmem systémová onkologická léčba se obecně rozumí chemoterapie, cílená léčba a imunoterapie. Tyto léčebné modalitty se od sebe významným způsobem odlišují v mechanismu účinku, efektivitě i ve spektru a závažnosti vedlejších nežádoucích účinků. Systémová onkologická léčba nachází uplatnění jak u časných, tak u pokročilých stadií NSCLC. Zásadní postavení má zejména v léčbě metastatického stadia, dále pak, v kombinaci nebo po vyčerpání možností radioterapie v léčbě lokoregionálně pokročilého onemocnění. Důležitou roli má systémová léčba, respektive chemoterapie, i u časných stadií NSCLC, kde je většinou kombinována s léčbou chirurgickou, případně s radioterapií a snižuje tak riziko recidivy onemocnění.

Prognóza pacientů s pokročilým stadiem NSCLC je velmi závažná. Přežití pacientů, pokud byli léčeni pouze základní podpůrnou léčbou, se dříve pohybovalo v rozmezí 2–5 měsíců a pouze 10 % z nich přežívalo déle než jeden rok [30]. Zavedením chemoterapie, která byla zpočátku užívána zejména pro léčbu pokročilého onemocnění, se podařilo dosáhnout prodloužení přežití pacientů a rovněž zmírnění příznaků nemoci. NSCLC patří mezi relativně chemorezistentní nádory, proto jsou zde možnosti chemoterapie částečně limitované. Užitím cytostatik formou dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace bylo dosaženo tzv. terapeutického plateau s mediánem přežití 8–10 měsíců [31]. Dalším významným mezníkem v léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC byl v nedávné době nástup cílené léčby a nejnověji také imunoterapie. Zavedením některých moderních cytostatik, preparátů cílené léčby a imunoterapie bylo v poslední době dosaženo dalšího významného prodloužení přežití a rovněž zlepšení kvality života pacientů.

Možnosti systémové onkologické léčby NSCLC

Postavení systémové onkologické léčby u NSCLC a vymezení základních pojmů

Systémová onkologická léčba jako součást multimodální léčby

Systémovou léčbu je možné kombinovat s chirurgickým výkonem, eventuelně s radioterpií v podobě léčby **adjuvantní** (následující po radikálním chirurgickém výkonu) nebo **neoadjuvantní** (předcházející radikálnímu chirurgickému výkonu). Tento přístup se uplatňuje zejména při léčbě časných, chirurgicky řešitelných, nebo potenciálně řešitelných stadií onemocnění (stadia I-IIIa). Jak již bylo uvedeno, výsledky pětiletého přežití pacientů, přestože byl proveden radikální chirurgický výkon, nejsou zdaleka uspokojivé. K relapsu onemocnění často dochází ve vzdálené lokalizaci. Ke zlepšení přežití pacientů začala být chirurgická léčba kombinována s léčbou systémovou. V indikaci neoadjuvantní nebo adjuvantní se standardně používá chemoterapie. Význam cílené léčby a imunoterapie v této indikaci je v současné době předmětem řady klinických studií, dosavadní výsledky v této oblasti však nenaplnují původní nadějná očekávání. Chemoterapii je možné kombinovat s radioterpií, a to v podobě **sekvenční** chemoradioterapie (radioterapie následuje v krátkém sledu po chemoterapii), nebo **konkomitantní** chemoradioterapie (radioterapie probíhá paralelně s chemoterapií). Tento přístup se užívá zejména v léčbě inoperabilního lokoregionálně pokročilého onemocnění. Jinou indikací je, pokud radioterapie představuje alternativu chirurgické resekce u pacientů, které není možné operovat z důvodu dalších komorbidit.

Systémová onkologická léčba jako samostatná léčebná modalita

U pokročilých stadií NSCLC, zejména ve stadiu metastatického onemocnění (stadium IV), se většinou systémová léčba užívá samostatně a bývá zde označována termínem **paliativní**. Její hlavní význam spočívá zejména ve zmírnění symptomů nemoci, zlepšení kvality života a v prodloužení přežití pacientů. V této indikaci se standardně uplatňují různé modalitativní systémové léčby, tedy chemoterapie, cílená léčba, a v poslední době také imunoterapie.

Udržovací léčba (*maintenance*)

Udržovací léčba představuje perspektivní léčebnou strategii, která je založena na pokračování v podávání systémové léčby, pokud bylo dosaženo regrese nebo stabilizace, respektive pokud nedošlo k progresi onemocnění. Dříve provedené studie s cytostatiky III. generace v režimu udržovací léčby neprokázaly výrazný benefit pro pacienty, zejména co se týče celkového přežití. Hlavním problémem zde byla kumulativní toxicita těchto cytostatik a s ní související riziko vzniku závažných komplikací. Dobrých výsledků bylo dosaženo až v posledních letech, s nástupem relativně málo toxické cílené léčby a některých moderních cytostatik. Můžeme rozlišit dva různé přístupy v udržovací léčbě: pokračující udržovací léčba (*continuation maintenance*) a konsolidační udržovací léčba (*switch maintenance*).

Pokračující udržovací léčba (*continuation maintenance*)

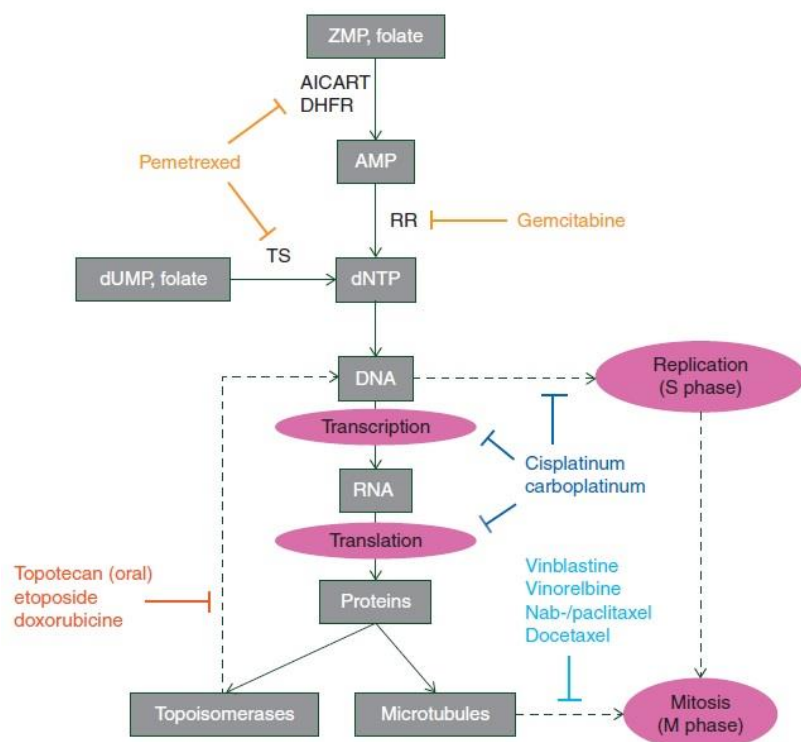
Při pokračující udržovací léčbě je po 4–6 cyklech chemoterapie kombinací s platinovým derivátem pokračováno v léčbě stejným cytostatickým režimem v monoterapii (bez platinového derivátu) až do zjištění progresu onemocnění nebo závažných nežádoucích účinků. V případě cílené léčby, je po jejím zahájení pokračováno rovněž do zjištění progresu onemocnění nebo závažných nežádoucích účinků. Tato strategie vychází z předpokladu, že pokračující léčba u pacientů odpovídajících na léčbu může nadále odstraňovat „vnímavé klony“ nádoru, které zůstaly přítomny i po indukční léčbě, a to vede ke zpomalení progresu a zlepšení kontroly příznaků onemocnění [32].

Konsolidační udržovací léčba (*switch maintenance*)

Při konsolidační udržovací léčbě se po 4–6 cyklech indukční chemoterapie, většinou kombinací s platinovým derivátem, dále pokračuje v terapii jiným cytostatickým režimem, nebo preparátem cílené léčby, a to aniž by po indukční léčbě došlo k progresu onemocnění. Tato strategie vychází z předpokladu, že časné zahájení další léčby (tj. ještě před progresu onemocnění, respektive před rozvojem rezistence nádoru) bez zkřížené rezistence může zlepšit výsledný stav [32].

Chemoterapie v léčbě NSCLC

NSCLC patří mezi málo až středně chemosenzitivní maligní nádory. Z tohoto důvodu byla úloha chemoterapie v léčbě NSCLC poměrně dlouhou dobu zpochybňována a v širším měřítku začala být používána až v 80. letech 20. století. Zpočátku byla chemoterapie používána pouze pro léčbu pokročilých stadií NSCLC. Byla užívána cytostatika II. generace (vinblastin, vindesin, mitomycin C, iphosphamid, platinové deriváty), která byla kombinována v různých léčebných schématech. Významným mezníkem v léčbě, zejména pokročilých stadií NSCLC byl nástup cytostatik III. generace (gemcitabin, paklitaxel, docetaxel a vinorelbin), která postupně vytlačila cytostatika dříve užívaná a v kombinaci s platinovým derivátem (cisplatina, karboplatina) nebo v monoterapii se užívají stále. Základní principy účinku, respektive cílových struktur, cytostatik nejčastěji užívaných v léčbě NSCLC jsou schematicky znázorněny na **Obrázku 5** [33]. Zavedením těchto cytostatik do klinické praxe bylo dosaženo významného prodloužení přežití pacientů s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC. Efektivní léčba vedla rovněž k potlačení symptomů a zlepšení kvality života těchto pacientů. Postupně byl prokázán význam cytostatické léčby i v oblasti adjuvantní.

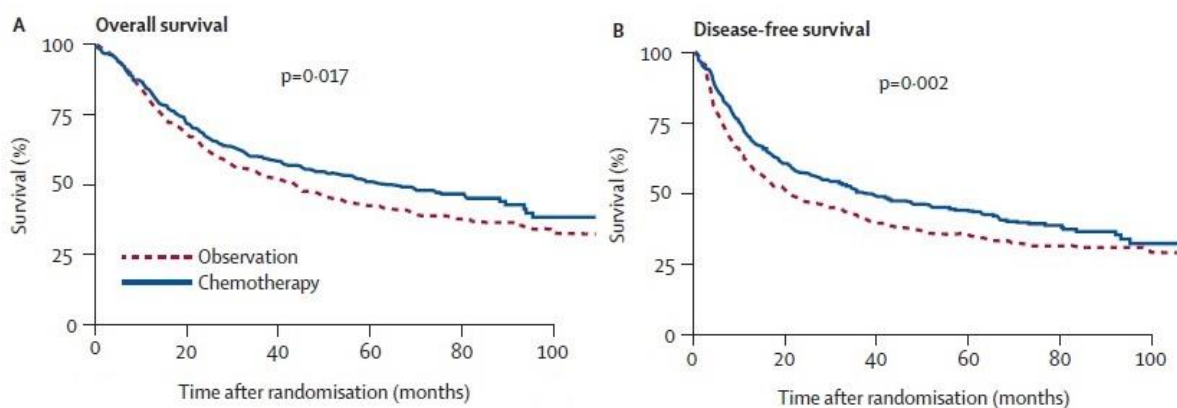


Obrázek 5 – Schematické znázornění základního principu účinku cytostatik nejčastěji užívaných v léčbě NSCLC

Převzato a upraveno podle: Olausson, K., A., et al., 2004 [33].

Adjuvantní chemoterapie

Adjuvantní chemoterapie je léčba, která následuje bezprostředně po radikálním chirurgickém výkonu. Účelem adjuvantní léčby je zejména časná eradikace mikrometastáz, jejím cílem je tedy zabránění vzniku recidivy onemocnění. Podání adjuvantní chemoterapie je doporučeno pro stadia IIA, IIB a IIIA. V některých případech je možné zvážení jejího užití i pro stadium IB (hlavní rizikové faktory: rizikových faktorů jako je velikost nádoru nad 4 cm, angioinvasze, grade 3). V adjuvantní indikaci je nejčastěji užívána kombinace platinového derivátu s vinorelbinem nebo paclitaxelem. Z hlediska provedených randomizovaných klinických studií má v robustních datech z klinických studií největší oporu kombinace cisplatinu a vinorelbínu [34-37]. Užití karboplatiny v indikaci adjuvantní léčby nemá oporu v datech z randomizovaných klinických studií, ale data z retrospektivních populačních studií ukazují srovnatelné výsledky adjuvantní léčby založené na karboplatině jako při léčbě založené na cisplatině [38]. Nepřímé důkazy umožňují užití platinového derivátu v kombinaci s docetaxelem nebo gemcitabinem, v případě neskvamózního histologického typu také v kombinaci s pemetrexedem [39]. Pokud je kontraindikováno užití platinového derivátu a není tak možné užití léčby kombinované, je možná monoterapie vinorelbinem, docetaxelem, paclitaxelem nebo gemcitabinem. Standardně je při adjuvantní léčbě podáváno 4–6 cyklů chemoterapie [40, 41].



Obrázek 6 – Srovnání OS (A) a DFI (B) pacientů ve studii ANITA

Převzato a upraveno podle: DOUILLARD, J., Y., et al., 2006 [35].

Neoadjuvantní chemoterapie

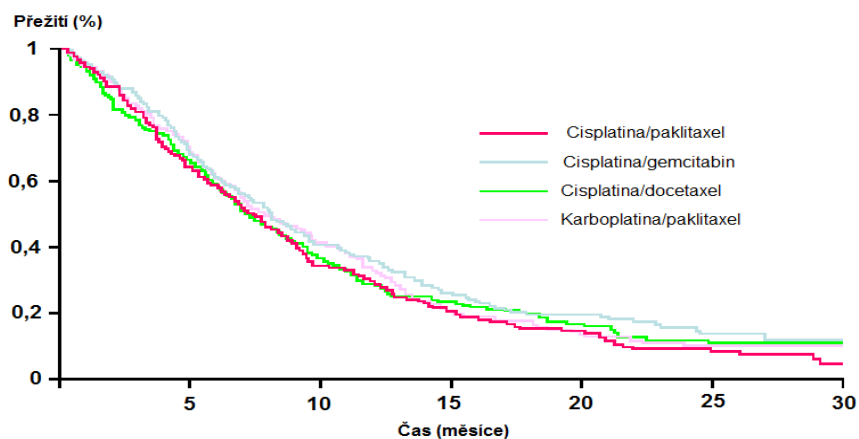
Neoadjuvantní chemoterapie představuje léčbu, která předchází předem plánovanému, nebo potenciálně zvažovanému, radikálnímu chirurgickému výkonu. Účelem neoadjuvantní léčby je redukovat rozsah onemocnění a usnadnit, nebo umožnit, tak provedení chirurgického výkonu s maximální radikalitou, včetně časně eradikace mikrometastáz. V praxi se tedy jedná o pacienty s potenciálně operabilním nálezem, většinou ve stadiu IIIA. Výhody neoadjuvantní léčby spočívají v rychlejší eradikaci mikrometastáz a lepší toleranci léčby pacientem. Naopak, rizika neoadjuvantní léčby spočívají v předem těžko predikovatelné rezistenci na léčbu vedoucí k progresi onemocnění do inoperabilního stadia a zhoršení celkového stavu pacienta v důsledku možných komplikací této léčby. V neoadjuvantní indikaci je většinou užívána kombinace cytostatika III. generace s platinovým derivátem. Obecně vzato, lze říci, že v poslední době je výrazný odklon od neoadjuvantní léčby NSCLC. Robustní data z větších randomizovaných klinických studií, která by jednoznačně prokázala význam neoadjuvantní chemoterapie u pacientů s potenciálně resektabilním NSCLC stále chybí. Tento postup tedy není v současné době běžným standardem léčby NSCLC [40, 41].

Paliativní chemoterapie

Paliativní chemoterapie je užívána v léčbě pokročilých stadií NSCLC v podobě metastatického stadia (stadium IV) a u lokoregionálně pokročilého onemocnění (stadium IIIB) po selhání radioterapie, případně při nemožnosti jejího využití. Paliativní chemoterapie má význam zejména ve zmírnění příznaků onemocnění, zlepšení kvality života, a v neposlední řadě, i v prodloužení přežití pacientů. Potlačení obtíží bývá dosaženo až u 70% pacientů a to je většinou spojeno i s významným zlepšením kvality života těchto pacientů [42]. V minulosti proběhla řada rozsáhlých randomizovaných klinických studií zaměřených na srovnání účinnosti a toxicity různých chemoterapeutických schémat založených na kombinaci cytostatik III. generace (paklitaxel, docetaxel, gemcitabin, vinorelbin) a platinového derivátu v první linii a v publikovaných metaanalýzách bylo zjištěno, že jejich účinnost i bezpečnost se významným způsobem neliší. Bylo zde dosaženo tzv. léčebného plateau s celkovým přežitím 8–10 měsíců (**Obrázek 7**) a dosažením objektivní léčebné odpovědi (kompletní nebo parciální remise) u 20–35% pacientů [31]. Tyto kombinace,

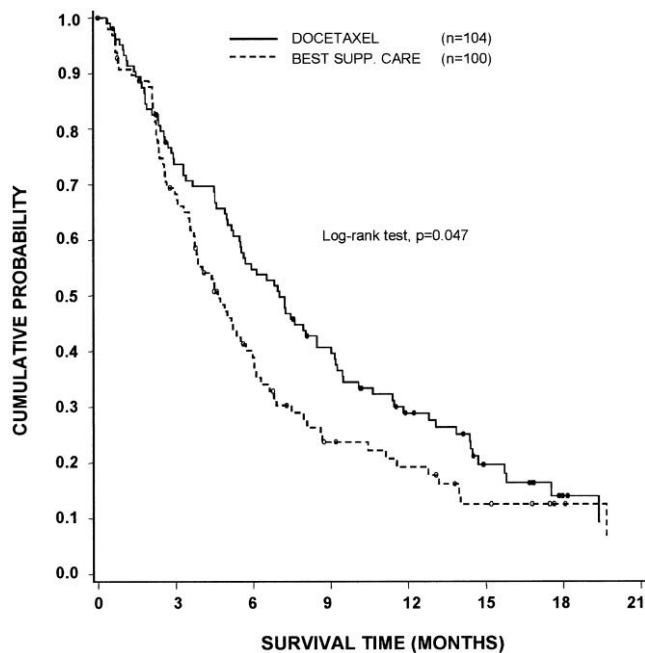
označované též jako tzv. „*platinový dublet*“, jsou v mnoha případech v první linii používány nadále. Dalšího pokroku bylo dosaženo zavedením chemoterapie ve druhé linii systémové léčby. Výsledky klinické studie fáze III TAX 317 prokázaly signifikantní prodloužení přežití pacientů léčených ve druhé linii docetaxelem v monoterapii oproti základní podpůrné léčbě (*basic supportive care - BSC*) (**Obrázek 8**) [43]. Docetaxel se tak stal prvním cytostatikem standardně užívaným ve druhé linii. Díky nástupu některých moderních cytostatik, uplatnění konceptu udržovací léčby, nástupu různých preparátů cílené léčby a imunoterapie a postupnému etablování konceptu personalizované onkologické léčby došlo v posledních letech k prolomení zmiňovaného terapeutického plateau a i nadále jsme svědky postupného významného prodlužování přežití i zlepšení kvality života pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Co se týče chemoterapie, významného pokroku bylo v posledních letech dosaženo nástupem pemetrexedu. Pemetrexed je antifolátové cytostatikum nové generace, které inhibicí několika enzymů zúčastněných v metabolismu kyseliny listové, blokuje syntézu thymidinu a purinových nukleotidů. V nedávné době byla prokázána efektivita pemetrexedu v léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC neskvamózní histologie v první i ve druhé linii léčby [44-46]. Nástup pemetrexedu navíc přinesl možnost jeho užití v režimu udržovací léčby (*maintenance*), především díky jeho relativně nízké kumulativní toxicitě. Efektivita a bezpečnost udržovací léčby pemetrexedem byla v klinických studiích fáze III prokázána v režimu konsolidační udržovací léčby (*switch maintenance*) i v režimu pokračující udržovací léčby (*continuation maintenance*) u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC neskvamózního histologického typu (**Obrázky 9, 10**) [47-49].

Při volbě optimálního léčebného schématu a dávkování je nutné důsledné posouzení různých kritérií, kam patří zejména: histologický typ (skvamózní vs. neskvamózní), výsledky molekulárně-genetického vyšetření prediktivních faktorů, stav výkonnosti pacienta, významné komorbidity, stav renálních, jaterních funkcí atd. Posouzení stavu výkonnosti pacienta je velmi důležitým kritériem pro volbu paliativní terapie. Stav výkonnosti (*performance status, PS*) je hodnocen anamnesticky podle kritérií daných Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), škála má stupně 0-5 (**Tabulka 3**) [50]. Užití paliativní chemoterapie je vhodné u pacientů s relativně dobrým stavem výkonnosti stupně 0, 1, eventuálně 2 dle skóre ECOG. U pacientů s ECOG PS 3 a 4 není léčba paliativní chemoterapií indikována, pro vysoké riziko komplikací, které by vedly k dalšímu zhoršení kvality života v této vysoce rizikové skupině.



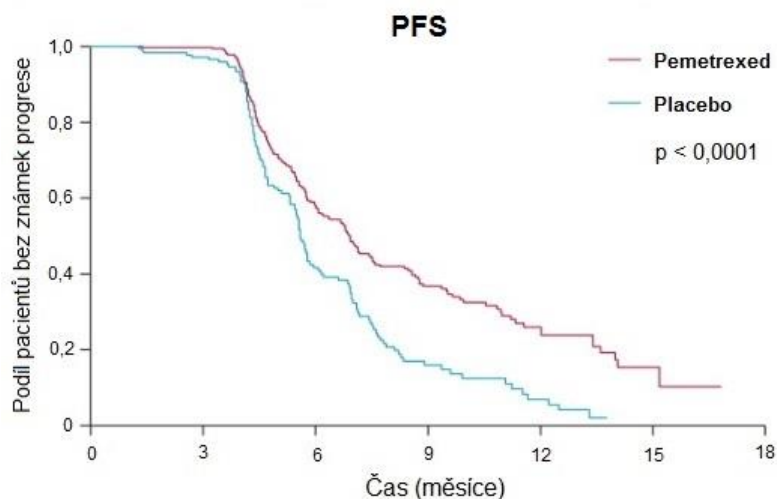
Obrázek 7 – Srovnání přežití pacientů pro kombinace cytostatik III. generace s platinovým derivátem

Převzato a upraveno podle: SCHILLER, J., H., et al., 2002 [31].



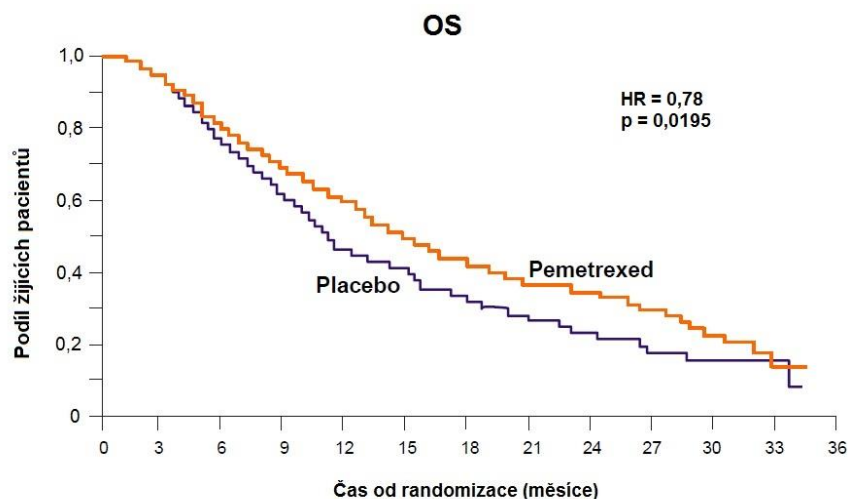
Obrázek 8 – Význam chemoterapie druhé linie. Srovnání přežití pacientů ve studii TAX317

Převzato a upraveno podle: SHEPERD, F., A., et al., 2000 [43].



Obrázek 9 – Význam pokračovací udržovací léčby pemetrexedem v první linii. Srovnání PFS od zahájení indukční léčby ve studii PARAMOUNT.

Upraveno a upraveno podle: PAZ-ARES, L., et al., 2012 [48].



Obrázek 10 – Význam pokračovací udržovací léčby pemetrexedem v první linii. Srovnání OS od zahájení indukční léčby ve studii PARAMOUNT.

Upraveno a upraveno podle: PAZ-ARES, L., et al., 2012 [49].

Tabulka 3 - Kritéria hodnocení ECOG PS

Stupeň	ECOG Performance Status
0	Pacient je plně aktivní, je schopen všech běžných aktivit bez omezení, více méně ve stejné míře jako před nemocí.
1	Pacient je omezen při fyzicky namáhavé činnosti, ale je schopen vykonávat práci lehkého nebo sedavého charakteru (např. lehká práce v domácnosti, kancelářská práce), schopen ambulantní péče.
2	Pacient je schopen péče o sebe a ambulantní péče, neschopen práce. Mimo lůžko tráví více než 50% denní doby.
3	Pacient je schopen omezené péče o sebe, upoután na lůžko více než 50 % denní doby.
4	Pacient je neschopen péče o sebe, zcela upoután na lůžko nebo do křesla
5	Umírající pacient

Cílená léčba NSCLC

Významný a rychlý rozvoj molekulární biologie a genetiky na konci 20. století vedl k hlubšímu porozumění mechanismům kancerogeneze a patofyziologie zhoubných nádorů. Tento pokrok umožnil odhalení některých signálních drah, které mají důležitý význam pro proliferaci a přežívání nádorových buněk a představují tak potenciální cíle protinádorové léčby. Vznikla tak nová disciplína systémové léčby označovaná pojmem cílená protinádorová léčba. Pro cílenou léčbu bývá někdy též používán pojem „biologická léčba“. Tento pojem, přestože je používán relativně často, není zcela správný, protože ne všechny molekuly, které do této kategorie patří, jsou látky biologické povahy a patří sem velké množství molekul vytvořených synteticky. Z tohoto důvodu je v tomto textu užíváno pouze pojmu „cílená léčba“, který je běžně užíván ve světové literatuře (*targeted therapy*). Základním principem účinku cílené léčby je selektivní blokáda specifických signálních drah, které jsou patologicky aktivované právě u nádorových buněk. Cílem této léčby je tedy pokud možno selektivně zasáhnout nádorové buňky a současně minimalizovat nežádoucí, toxické působení léku na zdravé tkáně.

Zavedení cílené léčby do klinické praxe v posledních letech významně přispělo k prodloužení přežití a zlepšení kvality života pacientů s pokročilým NSCLC. Nadále pokračující intenzivní rozvoj cílené léčby stále přináší další potenciálně účinné preparáty a dává tak naději, že budeme v budoucnu svědky dalšího zlepšování prognózy těchto pacientů. V současné době je cílená léčba u NSCLC standardně užívána výhradně pro léčbu pokročilých stadií, tedy pro lokoregionálně pokročilé (IIIB) nebo metastatické (IV) stadium onemocnění. Efekt některých preparátů cílené léčby v indikaci adjuvantní, neoadjuvantní nebo v kombinaci s radioterapií je v současné době intenzivně zkoumán a v budoucnu lze zřejmě očekávat rozšíření indikací pro užití různých preparátů cílené léčby u NSCLC.

Hlavní terče cílené léčby pokročilého NSCLC v současné době představují zejména dva procesy, které hrají klíčovou roli při kancerogenezi, nádorovém růstu a metastazování. Je to deregulace aktivace receptorů skupiny HER a deregulace angiogeneze. Mezi preparáty cílené léčby, které jsou k léčbě NSCLC užívány patří dva typy látek, jsou to monoklonální protilátky, které se váží na specifické extracelulární buněčné struktury nebo růstové faktory a nízkomolekulární inhibitory tyrozinkináz.

Hlavní terče cílené léčby u NSCLC

Angiogeneze

Novotvorba cév je proces, se kterým se můžeme setkat za fyziologických podmínek, během embryonálního vývoje, dále se významně uplatňuje například při hojení ran, během menstruačního cyklu nebo při vývoji placenty. Za patologických podmínek se s angiogenezí, respektive s jejími poruchami, můžeme setkat u nádorových onemocnění, ale například také u revmatoidní artritidy, retinopatie a chronických zánětů. Nádorová tkáň nutně potřebuje ke svému životu i k dalšímu růstu neustálý přísun kyslíku a živin, který je zajišťován novotvořenými cévami, které vznikají v důsledku patologické deregulace angiogeneze. V poslední době se tak angiogeneze stala cílem intenzivního výzkumu v onkologii pro svůj

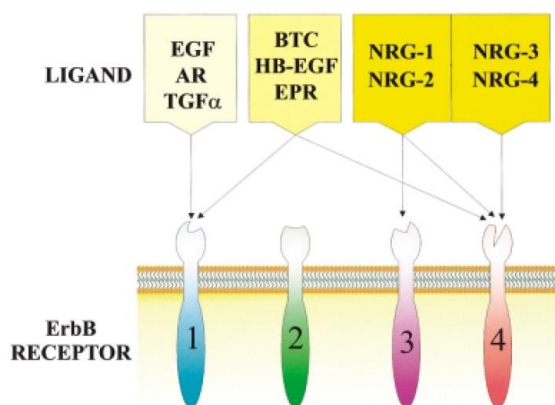
význam v patogenezi a metastazování zhoubných nádorů. Angiogeneze je složitý proces, který sestává z několika etap, kterými jsou: disoluce bazální membrány, proliferace a migrace endotelií a v konečném důsledku morfogeneze nových cév. Tento proces je regulován velkým množstvím humorálních působků, kam patří cytokiny, růstové faktory, adhezivní molekuly, integriny a proteolytické enzymy. Podle významu můžeme tyto faktory rozdělit na faktory angiogenní, které angiogenezi stimulují a faktory antiangiogenní, které působí její inhibici. Mezi klíčové angiogenní faktory patří: růstový faktor pro fibroblasty (*fibroblast growth factor*, FGF), který patří mezi nejvýznamnější stimulatory angiogeneze; vaskulární endotelový růstový faktor (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), který má mitogenní účinek na endotelie a zvyšuje permeabilitu cév; angiogenin, který stimuluje endotelie k produkci prostacyklinů a omezuje produkci adhezivních molekul; angiopoetiny, které ovlivňují zejména integritu endotelií a pericytů a vedou k maturaci novotvořených cév; matrix metaloproteázy (*matrix metalloproteinases*, MMP), které působí na bazální membránu endotelií a extracelulární matrix a vytváří tak prostor pro novotvořené cévy, dále podporují mobilitu endotelií a invazi nádorových buněk do cév; tumor nekrotizující faktor alfa (*tumor necrosis factor alfa*, TNF alfa), který se uplatňuje při degradaci bazální membrány tak, že aktivuje MMP, dále stimuluje produkci některých adhezivních molekul (ICAM-1) a cytokinů (interleukin 1); destičkový růstový faktor (*platelet-derived growth factor*, PDGF), který stimuluje proliferaci fibroblastů a produkci kolagenu, má tak význam zejména pro formování lumen novotvořené cévy; mezi další proangiogenní faktory dále patří: epidermální růstový faktor (*epidermal growth factor*, EGF), transformující růstový faktor alfa (*transforming growth factor alfa*, TGF alfa) a dále řada cytokinů jako interferon gama (IFN-gama), interleukin 1 (IL 1), interleukin 6 (IL 6) a interleukin 8 (IL 8). Mezi klíčové antiangiogenní faktory patří: trombospondin, jehož produkce je kontrolována genem p53; angiostatin, který blokuje proliferaci endotelií; endostatin, který má podobné vlastnosti jako angiostatin; destičkový faktor 4 (*platelet factor 4*, PF 4), který omezuje vazbu FGF a inhibuje proliferaci endotelií; interferony alfa a beta, které inhibují proliferaci endotelií; tkáňové inhibitory metaloproteináz (*tissue inhibitors of metalloproteinases*, TIMP), které brání fragmentaci bazální membrány [51-59]. Vzájemné interakce všech uvedených faktorů jsou velmi složité a doposud nebyly zcela podrobně objasněny. Za fyziologických podmínek je mezi angiogenními a antiangiogenními faktory rovnováha, jejíž narušení, u patologických stavů, vede k deregulaci angiogeneze. Deregulovaná angiogeneze u nádorových onemocnění je živelný proces, při kterém nekontrolovaně vzniká velké množství novotvořených cév, tyto jsou však nevyzrálé, strukturálně insuficientní a chaoticky uspořádané. Důsledkem toho pak v nádorové tkáni dochází často ke krvácení, trombózám a zvýšenému průniku plazmy do intersticia, to vede ke zvýšení intersticiálního tlaku a celkově k horšímu prokrvení nádorové tkáně. V nádorové tkáni pak dochází k rozvoji hypoxických nekrotů, které však stimulují další patologickou angiogenezi [51-59]. Angiogeneze, respektive její deregulace, hraje velmi důležitou roli v patogenezi maligních nádorů a stala se proto dalším významným terčem cílené léčby.

V praxi jsou k inhibici angiogeneze používány zejména preparáty cílené na inhibici signální dráhy VEGF-VEGFR. Angiogenní účinky VEGF je možné terapeuticky blokovat na několika úrovních. Nejčastěji používaným způsobem blokády angiogeneze je neutralizace VEGF vazbou specifické monoklonální protilátky (bevacizumab). Jinou možností je

neutralizace VEGF vazbou na solubilní *decoy* receptor (aflibercept). Blokáda extracelulární domény VEGFR vazbou specifické monoklonální protilátky představuje mechanismus účinku ramucirumabu. Další možností je blokáda tyrozinkinázové domény receptorů pro angiogenní faktory (například: VEGF, PDGF, FGF). Mezi takové preparáty patří multikinázové inhibitory jako například: sunitinib, sorafenib, axitinib, pazopanib a nintedanib. V léčbě NSCLC je v současné době standardně požíván bevacizumab v kombinaci s platinovým dubletem pro léčbu první linie u pacientů s neskvamózním typem NSCLC a nintedanib v kombinaci s docetaxelem ve druhé linii u pacientů s adenokarcinomem [40-41].

Receptor pro epidermální růstový faktor

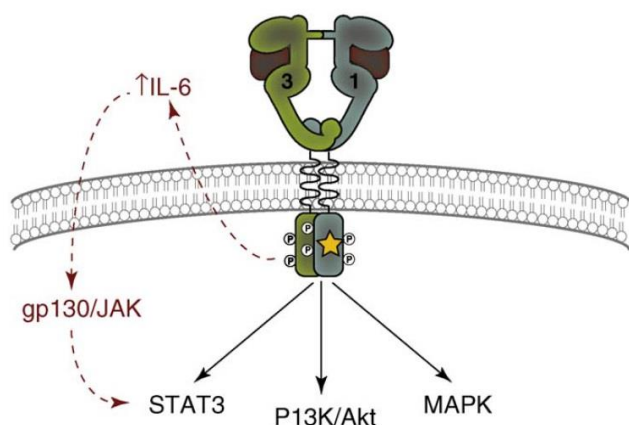
Receptory pro růstové faktory, mezi které patří receptor pro epidermální růstový faktor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) představují velmi důležité buněčné struktury, které hrají klíčovou roli v regulaci buněčného cyklu, diferenciaci, proliferaci a buněčného přežívání epidermálních tkání. Za fyziologických podmínek se uplatňují při vývoji a růstu orgánů. Za patologických podmínek se významným způsobem uplatňují v procesu kancerogeneze, nádorového růstu a metastazování. EGFR je transmembránový glykoprotein, který je kódován genem lokalizovaným na chromozomu 7, v oblasti 7p12. Patří do rodiny transmembránových tyrozinkinázových receptorů označované jako rodina **HER** (*human EGFR related*) nebo též **ErbB** (*Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog*). Tato receptorová rodina čítá celkem čtyři členy, patří sem **HER1 (EGFR, ErbB1)**, **HER2/neu (ErbB2)**, **HER3 (ErbB3)** a **HER4 (ErbB4)**. Tyto receptory jsou složeny z extracelulární domény, jejíž funkcí je vazba specifického ligandu, transmembránové lipofilní domény a intracelulární, cytoplazmatické domény s tyrozinkinázovou aktivitou. Přirozené aktivační ligandy EGFR představují EGF, TGF alfa a amfíregulin. Krom těchto ligandů, které aktivují specificky EGFR může být EGFR aktivován ještě jinými ligandy, které aktivují také HER4, sem patří „*heparin-binding EGF-like*“ růstový faktor (HB-EGF), betaregulin a epiregulin. Přirozené aktivační ligandy HER3 představují neuregulin 1 a neuregulin 2 (**Obrázek 11**). Přirozené aktivační ligandy HER4 představují neuregulin 3 a neuregulin 4. Přirozený aktivační ligand HER2/neu není znám, ale předpokládá se, že tento receptor sehrává roli hlavně jako koreceptor, tedy tak, že tvoří dimery při aktivaci jiných receptorů rodiny HER [60, 61].



Obrázek 11 – Vazba ligandů na receptory rodiny HER (ErbB)

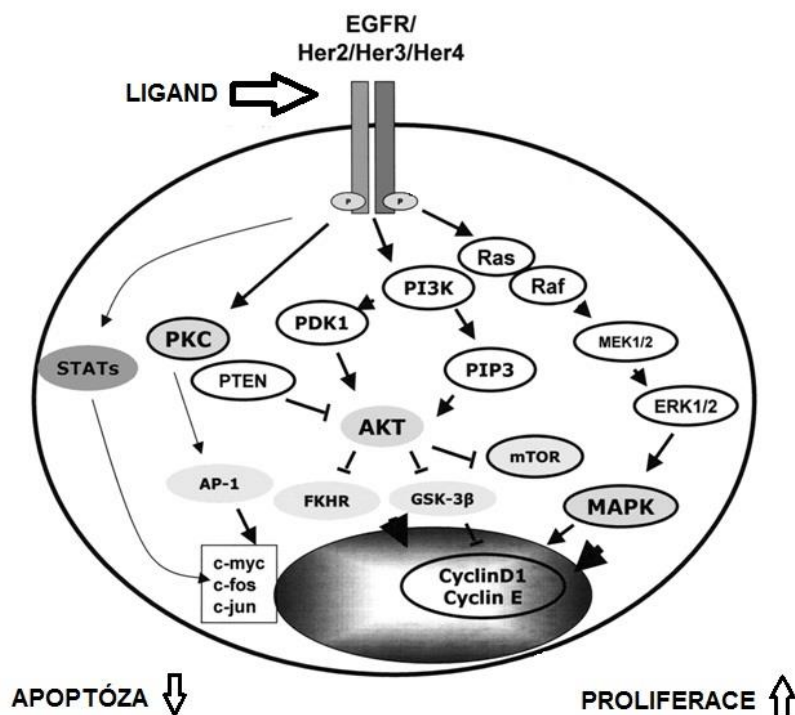
Převzato a upraveno podle: OLAIJOYE, M., A., et al., 2000 [61].

Vazba ligandu na receptor vede k dimerizaci, při které dochází k párování se stejným receptorem za vzniku homodiméru nebo k párování s jiným receptorem rodiny HER za vzniku heterodiméru. Následně dochází k autofosforylaci cytoplazmatické tyrosinkinázové domény. V důsledku autofosforylace pak dochází k aktivaci řady intracelulárních přenašečů signálu a spuštění několika signálních kaskád. Spuštění těchto signálních drah v konečném důsledku vede k transkripci cílových genů v buněčném jádře. Signální dráhy (**Obrázky 12, 13**), které se klíčovým způsobem uplatňují při aktivaci EGFR představují zejména kaskáda **RAS/RAF/MAPK** (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), která vede ke stimulaci buněčné proliferace a kaskáda **PI3K-AKT**, která vede k inhibici apoptózy. Podstatným faktem, který je zde třeba rovněž zmínit je to, že některé signální dráhy, které jsou spouštěny aktivací EGFR mohou být spuštěny i aktivací jiných receptorů pro růstové faktory jako je PDGFR, receptory pro insulinu podobný růstový faktor (*insulin-like growth factor receptor*, IGFR), nebo receptory spojené s G-proteiny (*G protein-coupled receptors*, GPCRs) [60, 62, 63].



Obrázek 12 – Aktivace EGFR signální dráhy – tvorba heterodimeru – fosforylace tyrosinkinázové domény – aktivace dalších signálních drah

Převzato a upraveno podle: HYNES, N., E., et al., 2009 [64].



Obrázek 13 – Komplexní pohled na EGFR signální dráhy.

Převzato a upraveno podle: SCAGLIOTTI, G., V., et al., 2004 [65].

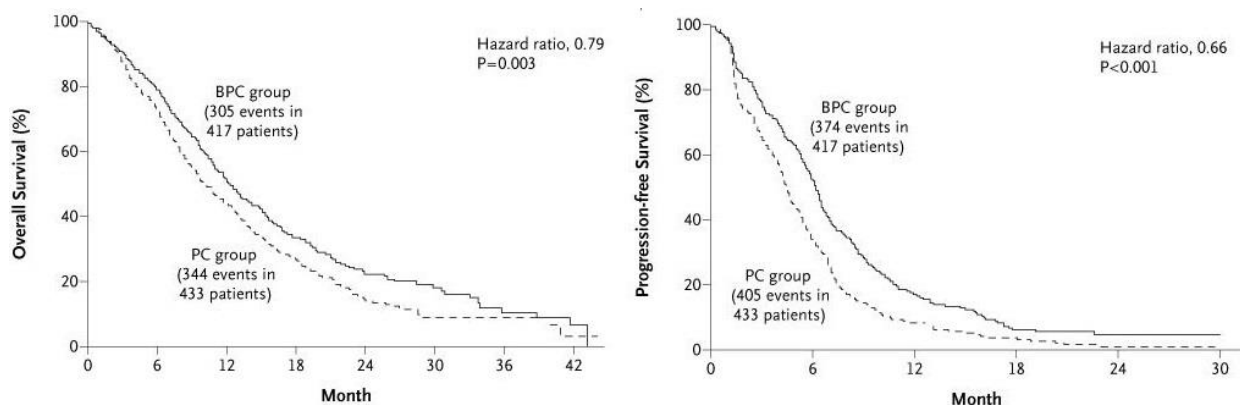
Za fyziologických podmínek podléhá proces aktivace EGFR přísné regulaci. Po aktivaci receptoru navázáním ligandu dochází k internalizaci receptoru a jeho následné degradaci v lysozomech, nebo může dojít k jeho recyklaci, kdy je receptor navrácen znovu na buněčnou membránu. Za patologických podmínek dochází často k poruše regulace aktivace EGFR. U řady zhoubných nádorů, včetně NSCLC, se můžeme setkat s deregulací aktivity EGFR na různé úrovni. Může se jednat o zvýšenou expresi ligandů (růstových faktorů), zvýšenou expresi genu EGFR, amplifikaci genu EGFR, mutace genu EGFR, nebo narušení intracelulárních regulačních mechanismů. Důsledkem takto vzniklé deregulace aktivity EGFR je pak narušení kontroly buněčného cyklu, urychlení buněčné proliferace a stimulace angiogeneze. Tyto jevy vedou v konečném důsledku k růstu nádoru a metastazování [60, 65-71]. Deregulovanou aktivitu EGFR je možné terapeuticky zablokovat na několika úrovních. Nejčastěji používaným způsobem blokády u NSCLC je blokáda aktivace tyrozinkinázové domény receptoru pomocí reverzibilních nízkomolekulárních tyrozinkinázových inhibitorů, kam patří preparáty erlotinib a gefitinib, nebo ireverzibilních nízkomolekulárních tyrozinkinázových inhibitorů (afatinib). Jinou možností je blokáda extracelulární domény EGFR vazbou specifické monoklonální protilátky (cetuximab, matuzumab, panitumumab, necitumumab) [60].

Preparáty cílené léčby užívané v léčbě NSCLC

Bevacizumab

Bevacizumab je intravenózně podávaná humanizovaná monoklonální protilátka proti VEGF. Mechanismem účinku je blokáda deregulované novotvorby cév, které přinášejí nádoru kyslík a nezbytné živiny, které jsou pro přežití a růst nádorové tkáně nezbytné. Blokáda aktivace receptoru pro VEGF vede k částečnému zániku stávajících cév a také k redukcii jejich novotvorby. Důsledkem sníženého přísunu kyslíku a živin je zastavení růstu a zmenšení velikosti primárního nádoru i metastáz [72]. Bevacizumab je standardně používán k prvoliniové léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC predominantně neskvamózního histologického typu. Je kombinován se standardními cytostatickými režimy karboplatina/paklitaxel nebo cisplatina/gemcitabin. Pokud nedojde během šesti cyklů této léčby k progresi onemocnění, je bevacizumab podáván dále v monoterapii až do zjištění progresu. Účinnost a bezpečnost bevacizumabu u NSCLC byly studovány v několika rozsáhlých studiích fáze III.

V randomizované klinické studii fáze III, **E4599** byl bevacizumab podáván v dávce 15 mg/kg společně s kombinací chemoterapie karboplatina/paklitaxel. Ve srovnání se samotnou chemoterapií studie prokázala vyšší četnost léčebných odpovědí (35% vs. 15%), delší přežití bez známek progresu (*progression-free survival*, PFS) (6,2 vs. 4,5 měsíce; $p < 0,001$) a delší celkové přežití (*overall survival*, OS) (12,3 vs. 10,3 měsíce, $p = 0,003$) u pacientů v rameni s bevacizumabem (**Obrázek 14**), při čemž nejlepších výsledků bylo dosaženo v podskupině pacientů s adenokarcinomem. V rameni s bevacizumabem byl zjištěn častější výskyt neutropenie (24% vs. 16,4%) a arteriální hypertenze 2. stupně (6% vs. 0,7%), nejzávažnějším nežádoucím účinkem bevacizumabu byla masivní hemoptýza (4,5% vs. 0,7%), která se však vyskytovala převážně u pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC [73, 74].



Obrázek 14 – Srovnání přežití pacientů ve studii E4599.

Převzato a upraveno podle: SANDLER, A., et al., 2006 [74].

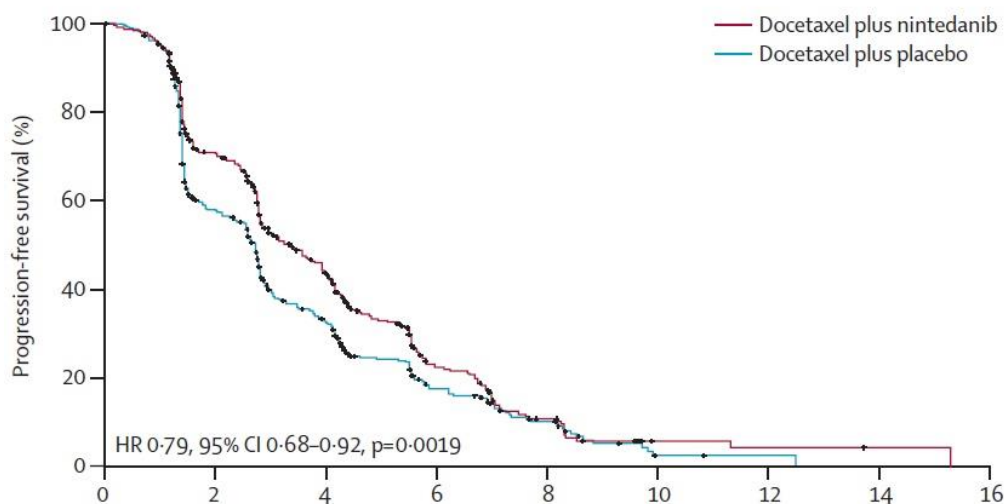
V randomizované klinické studii fáze III, **AVAiL** byl bevacizumab podáván v dávce 7,5 mg/kg, nebo 15 mg/kg společně s kombinací chemoterapie cisplatina/gemcitabin. S cílem eliminace závažných nežádoucích účinků do studie nebyli zařazeni pacienti se skvamózním histologickým typem NSCLC. Studie ukázala vyšší četnost léčebných odpovědí (34% vs.

20%) a delší PFS (6,8 vs. 6,2 měsíce, $p=0,0003$) u pacientů v rameni s bevacizumabem, nebylo však dosaženo statisticky signifikantního rozdílu v OS (13,6 vs. 13,1 měsíce, $p=0,42$). Celkově lepších výsledků bylo dosaženo užitím dávky 7,5 mg/kg [75, 76].

Nintedanib

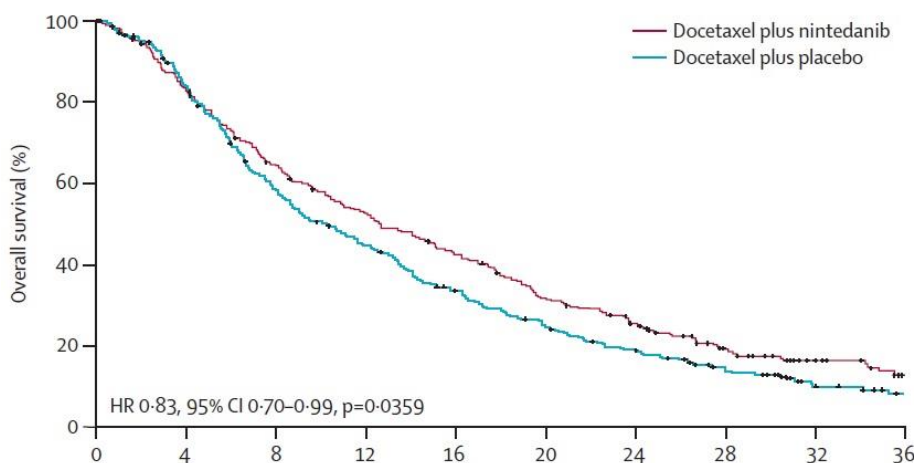
Nintedanib je perorální multikinázový inhibitor s antiangiogenní aktivitou. Mechanismem jeho účinku je blokáda signálních drah stimulujících angiogenezi: VEGFR1–3, FGFR1–3, PDGFR α a β , RET, FLT3, a Src [77]. Nintedanib, v kombinaci s docetaxelem, se recentně etabloval ve druhé linii léčby pacientů s pokročilým stadiem adenokarcinomu plic [40, 41]. Svoji efektivitu a bezpečnost u NSCLC prokázal v několika klinických studiích, klíčová pro registraci byla randomizovaná, placebem kontrolovaná, klinická studie fáze III, LUME-Lung 1.

Ve studii **LUME-Lung 1** byl nintedanib v kombinaci s docetaxelem srovnáván proti samotnému docetaxelu (s placebem) ve druhé linii léčby pacientů s pokročilého stadiem NSCLC. Primární cíl studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení PFS (3,4 vs. 2,7 měsíce, $p=0,0019$) u pacientů léčených kombinací nintedanib+docetaxel v porovnání s pacienty, kteří byli léčeni kombinací docetaxel+placebo (**Obrázek 15**). Prodloužení OS u pacientů léčených nintedanibem bylo dosaženo pouze v podskupině pacientů s adenokarcinomem (12,6 vs. 10,3 měsíce, $p=0,0359$) (**Obrázek 16**). Nintedanib prokázal uspokojivý bezpečnostní profil, mezi nejčastěji popisované nežádoucí účinky patřily: průjemy, nechutenství, nauzea, elevace transamináz a neutropenie [78].



Obrázek 15 – Srovnání PFS pacientů ve studii LUME-Lung 1

Převzato a upraveno podle: RECK, M., et al., 2014 [78].

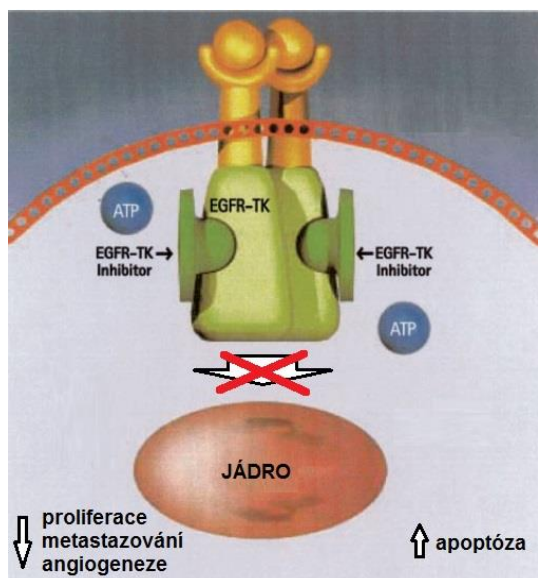


Obrázek 16 – Srovnání OS pacientů ve studii LUME-Lung 1 – podskupina pacientů s adenokarcinomem

Převzato a upraveno podle: RECK, M., et al., 2014 [78].

EGFR tyrozinkinázové inhibitory

Tyrozinkinázové inhibitory receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR-TKI) jsou nízkomolekulární látky, které pronikají do buňky, kde kompetitivně blokují fosforylaci tyrozinkinázové domény, která je lokalizována na cytoplazmatické doméně receptoru. Toto pak vede k blokádě celé signální dráhy receptoru a v konečném důsledku dochází k zastavení proliferace a indukci apoptózy takto zasažené nádorové buňky (**Obrázek 17**). Mezi tyto preparáty patří erlotinib, gefitinib, afatinib a osimertinib. Podle způsobu blokády fosforylace tyrozinkinázové domény EGFR můžeme EGFR-TKI rozdělit na inhibitory reverzibilní (EGFR-TKI první generace), kam patří erlotinib a gefitinib, a na inhibitory ireverzibilní, kam patří afatinib (EGFR-TKI druhé generace) a osimertinib (EGFR-TKI třetí generace). Efekt erlotinibu a gefitinibu byl původně zkoumán v kombinaci s konvenční chemoterapií. Zpočátku provedené klinické studie fáze III s erlotinibem a gefitinibem (TALENT, TRIBUTE, INTACT 1, INTACT 2) však nepotvrdily význam jejich přidání ke konvenční chemoterapii [79-82]. Důvod proč, není zcela jasný, ale některé preklinické studie poukazují na možný antagonistický efekt této cílené léčby a konvenční chemoterapie [83-85]. Následně provedené klinické studie však potvrdily efektivitu léčby EGFR-TKI v monoterapii, což vedlo k jejich zařazení mezi preparáty užívané k léčbě pokročilého NSCLC a na podkladě klinických zkušeností pak došlo k dalšímu upevnění pozice EGFR-TKI v léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Zásadní postavení získaly EGFR-TKI zejména u pacientů s aktivační mutací genu EGFR. Možnosti léčby EGFR-TKI se dále rozšiřují díky nástupu EGFR-TKI druhé (afatinib) a třetí generace (osimertinib), které vykazují účinnost i po vzniku rezistence na EGFR-TKI první generace způsobený rezistentní EGFR mutací T790M.

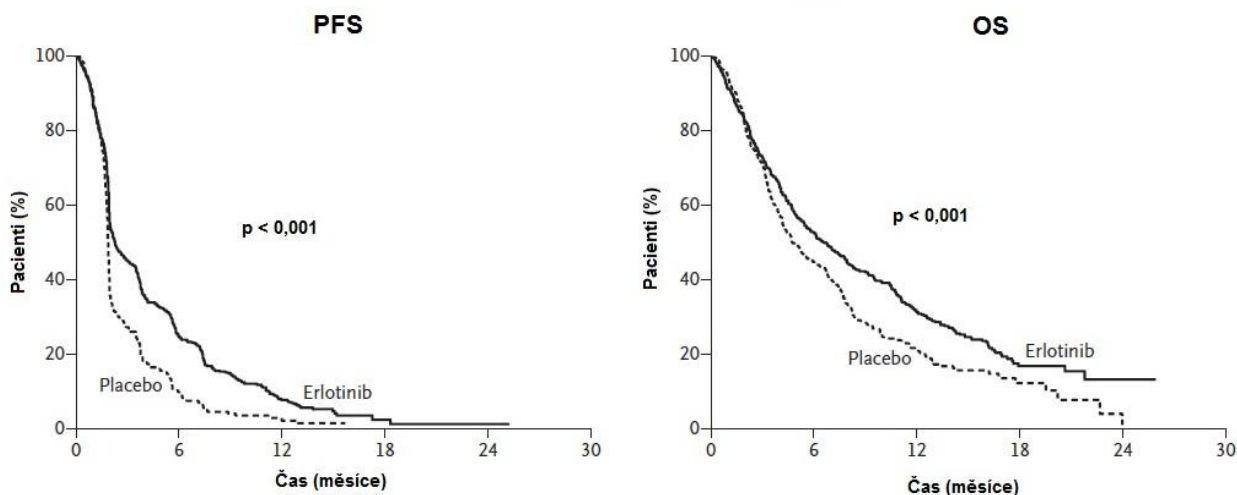


Obrázek 17 – Inhibice EGFR signální dráhy na úrovni tyrozinkinázové domény
 Převzato a upraveno podle: HERBST, R., S., et al., 2003 [86].

Erlotinib

Erlotinib je perorální nízkomolekulární reverzibilní inhibitor tyrozinkinázy EGFR první generace. Je užíván k léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. V první linii je užíván u pacientů s nádory s aktivační mutací genu EGFR. Po selhání chemoterapie první (nebo druhé) linie je užíván u pacientů, s nádory s *wild-type* EGFR genem, nebo těch, kde nebylo genetické vyšetření provedeno [40, 41]. Jinou, málo využívanou, indikací erlotinibu je léčba v režimu konsolidační udržovací léčby (*switch maintenance*). Nejnovější schválenou indikací erlotinibu je kombinace s bevacizumabem v první linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC s prokázanou aktivační mutací genu EGFR. Erlotinib je standardně užíván v monoterapii a léčba je ukončena při zjištění progresu onemocnění. Léčba erlotinibem je většinou dobře tolerovaná. Nejčastěji popisovaným nežádoucím účinkem erlotinibu je papulopustulózní exantém (*rash*), xerodermie, paronychia, průjmy a elevace transamináz. Bylo prokázáno, že výskyt a intenzita kožního exantému většinou dobře koreluje s léčebnou odpovědí [87-89].

Ve studii **BR.21** byl erlotinib srovnáván s placebem u pacientů po selhání předchozí léčby chemoterapií. Primárním cílem studie bylo srovnání celkového přežití od zahájení léčby erlotinibem. U pacientů léčených erlotinibem bylo prokázáno prodloužení PFS (2,2 vs. 1,8 měsíce, $p < 0,001$) i prodloužení OS (6,7 vs. 4,7 měsíce, $p < 0,001$) (**Obrázek 18**). Bylo zjištěno, že z léčby více profitují určité skupiny pacientů a to Asiaté, ženy, nekuřáci, pacienti s adenokarcinomem a pacienti, u kterých byla prokázána aktivační mutace genu EGFR. V porovnání s placebem však z léčby erlotinibem profitovali i pacienti mimo takto determinované skupiny. Z léčby profitovali i pacienti vyššího věku, horšího stavu výkonnosti a značně předlčení pacienti. Tato studie, stejně jako řada dalších, prokázala příznivý profil toxicity erlotinibu [90].

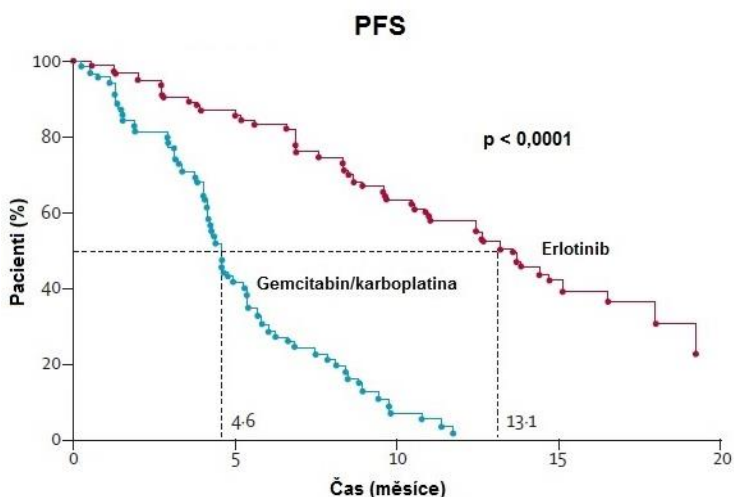


Obrázek 18 – Srovnání přežití pacientů ve studii BR.21

Převzato a upraveno podle: SHEPHERD, F., A., et al., 2005 [90].

Význam erlotinibu v první linii v porovnání se standardní chemoterapií u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou aktivační mutací genu EGFR byl prokázán ve dvou randomizovaných klinických studiích III. fáze, OPTIMAL a EURTAC. Primárním cílem obou studií bylo srovnání PFS, léčebné odpovědi a toxicity obou léčebných modalit.

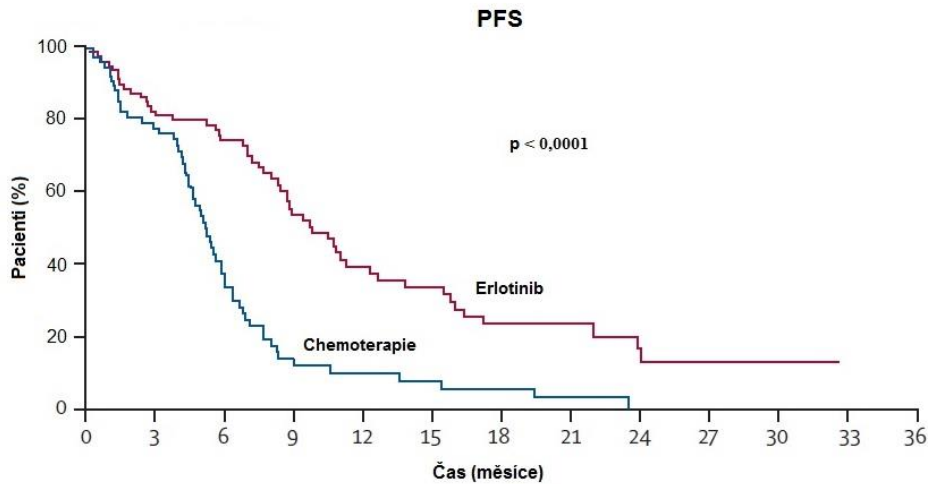
Ve studii **OPTIMAL** byl erlotinib v monoterapii srovnáván s chemoterapií ve složení karboplatina/gemcitabin u pacientů Asijské rasy. Výsledky ukázaly významně delší PFS u pacientů léčených erlotinibem (4,6 vs. 13,1 měsíce, $p < 0,0001$) (**Obrázek 19**). Rozdíl v OS prokázán nebyl, z důvodu cross-overu. Výsledky studie rovněž potvrdily výrazně lepší profil toxicity erlotinibu [91].



Obrázek 19 – Srovnání PFS pacientů ve studii OPTIMAL

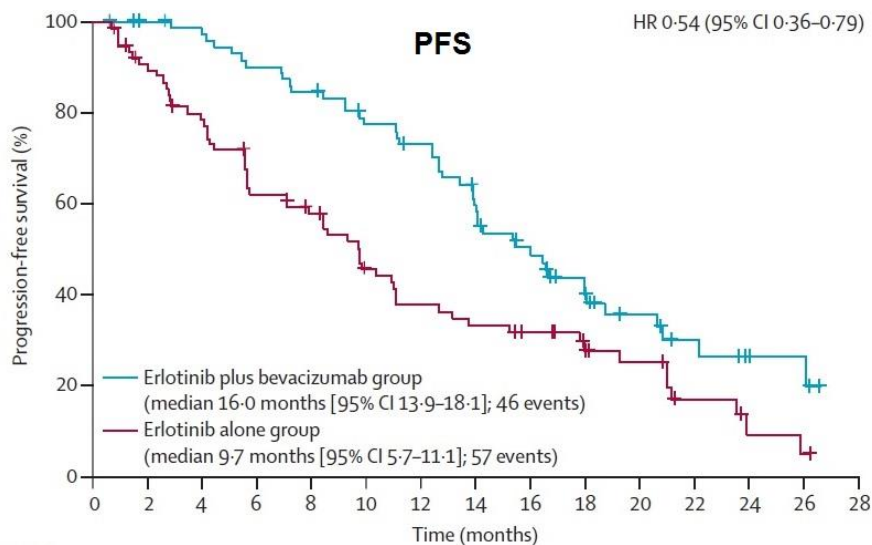
Převzato a upraveno podle: ZHOU, C., et al., 2011 [91].

Ve studii **EURTAC** byl erlotinib v monoterapii srovnáván s chemoterapií ve složení platinový derivát/docetaxel nebo platinový derivát/gemcitabin u pacientů Kavkazské rasy. Výsledky této studie rovněž ukázaly významně delší PFS (5,2 vs. 9,7 měsíce, $p < 0,0001$) u pacientů léčených erlotinibem (**Obrázek 20**). Rozdíl v OS prokázán nebyl, z důvodu cross-overu [92].



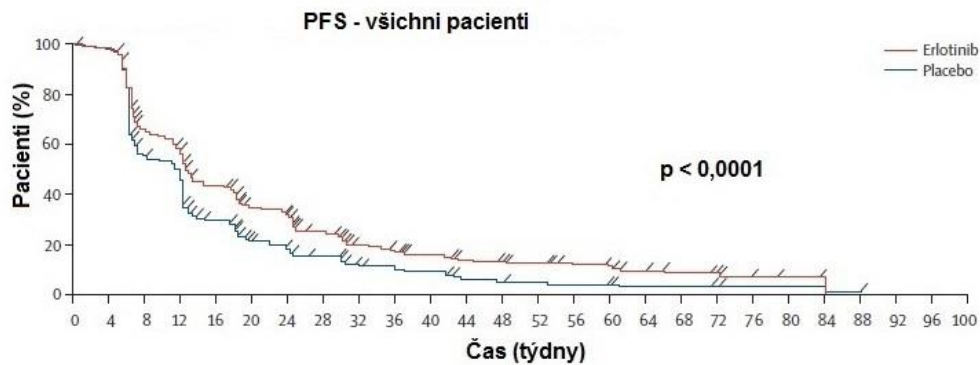
Obrázek 20 – Srovnání PFS pacientů ve studii EURTAC
Převzato a upraveno podle: ROSELL, R., et al., 2012 [92].

Efektivitu a bezpečnost erlotinibu v kombinaci s bevacizumabem v první linii u pacientů s pokročilým NSCLC s aktivační mutací genu EGFR recentně hodnotila randomizovaná klinická studie fáze II **JO25567**. Ve studii bylo prokázáno signifikantní prodloužení PFS (16,0 vs. 9,7 měsíců, $p=0,0015$) v rameni s kombinovaným režimem (**Obrázek 21**). Léčba kombinovaným režimem byla dobře tolerovaná, častěji provázená některými nežádoucími účinky stupně 3, zejména kožního exantému (25% vs. 19%) a hypertenze (60% vs. 10%) [93].

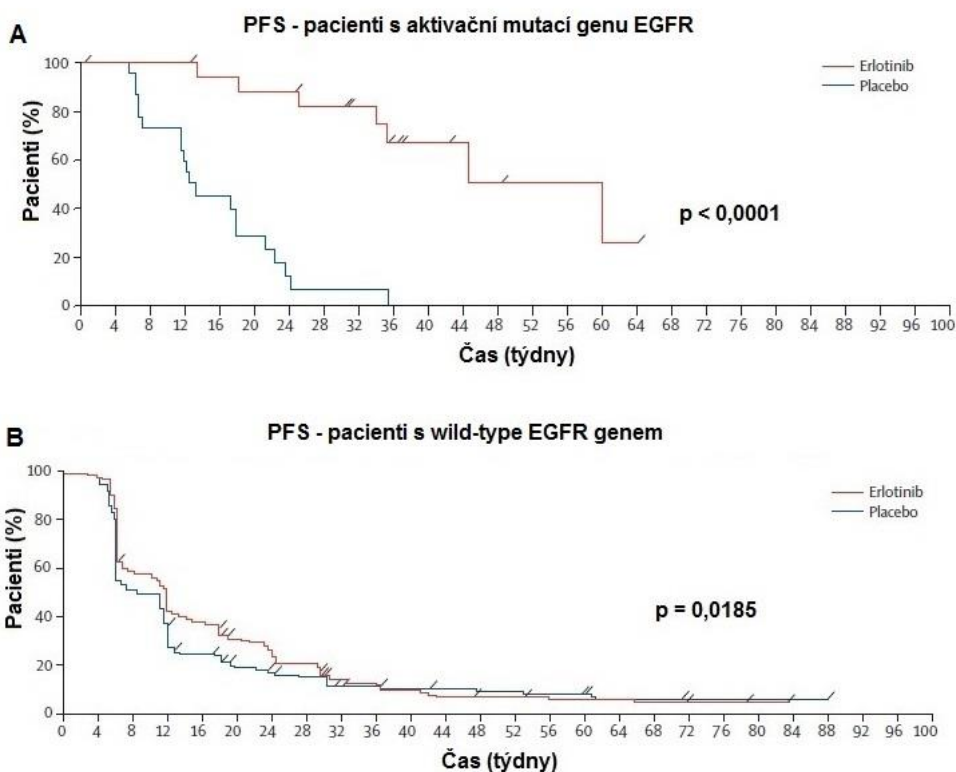


Obrázek 21 – Srovnání PFS pacientů ve studii JO25567
Převzato a upraveno podle: SETO, T., et al., 2014 [93].

Význam erlotinibu v režimu konsolidační udržovací léčby (*switch maintenance*) byl prokázán ve studii **SATURN**, kde byl erlotinib srovnáván s placebem u pacientů, u kterých nedošlo k progresi během 4 cyklů chemoterapie první linie standardním cytostatickým režimem. U pacientů léčených erlotinibem bylo dosaženo prodloužení PFS (11,1 vs. 12,3 měsíce, $p < 0,0001$) (**Obrázek 22**) i OS (12,0 vs. 11,0 měsíců, $p = 0,0088$). Výsledky studie ukázaly, že z léčby více profitovali pacienti, kteří byli nositeli aktivační mutace genu EGFR (**Obrázek 23A**), nicméně z léčby erlotinibem profitovali i pacienti s nádory s *wild-type* EGFR genem (**Obrázek 23B**) [94].



Obrázek 22 – Srovnání PFS pacientů ve studii SATURN u všech pacientů
Převzato a upraveno podle: CAPPUZZO, F., et al., 2010 [94].



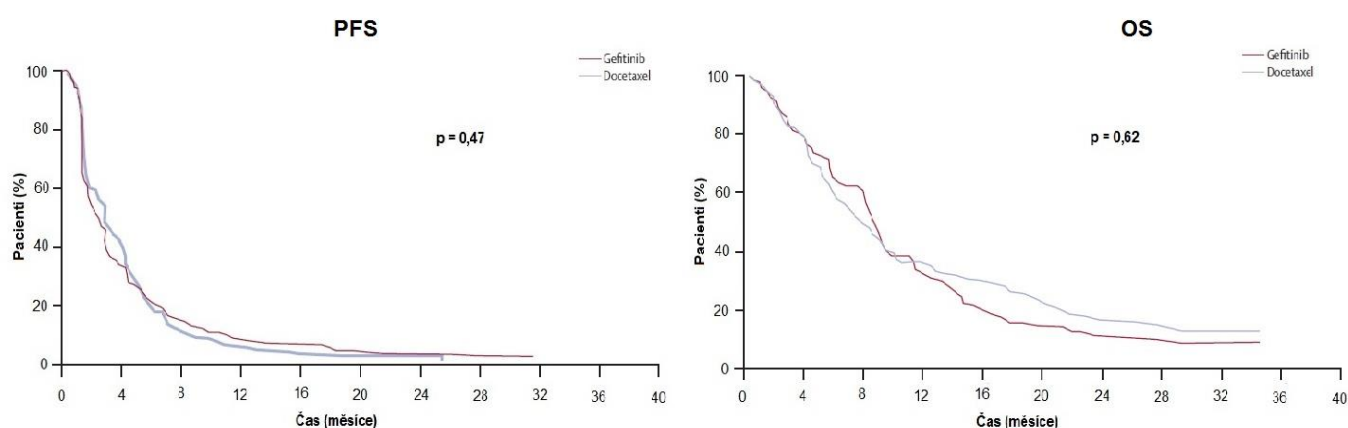
Obrázek 23 – Srovnání PFS ve studii SATURN dle EGFR mutace – pacienti s mutací EGFR (A), pacienti s wild-type EGFR (B)

Převzato a upraveno podle: CAPPUZZO, F., et al., 2010 [94].

Gefitinib

Gefitinib je perorální nízkomolekulární reverzibilní inhibitor tyrozinkinázy EGFR. Gefitinib je indikován k léčbě první linie u pacientů s pokročilým NSCLC, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR [40, 41]. Standardně je užíván v monoterapii a léčba je ukončena při zjištění progresu onemocnění. Léčba gefitinibem je většinou dobře tolerována. Spektrum nežádoucích účinků je obdobné jako u erlotinibu. Nejčastěji se můžeme setkat s projevy kožní toxicity jako je papulopustulózní exantém, xerodermie a paronychia, dále se můžeme setkat s průjmy a elevací transamináz. Účinnost a bezpečnost gefitinibu byly studovány v několika klinických studiích fáze III.

Ve studii **INTEREST** byl gefitinib srovnáván s docetaxelem ve druhé linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC. Výsledky studie prokázaly srovnatelné PFS (2,2 vs. 2,7 měsíce, $p=0,47$) i OS (7,6 vs. 8,0 měsíce, $p=0,62$) (**Obrázek 24**). Bylo však prokázáno větší zlepšení kvality života pacientů léčených gefitinibem a léčba gefitinibem byla spojena s menším množstvím nežádoucích účinků. Výsledky léčby gefitinibem byly lepší u některých specifických skupin pacientů a to u žen, pacientů s adenokarcinomem a nekuřáků, z léčby velmi dobře profitovali pacienti s prokázanou aktivační mutací genu EGFR [95].

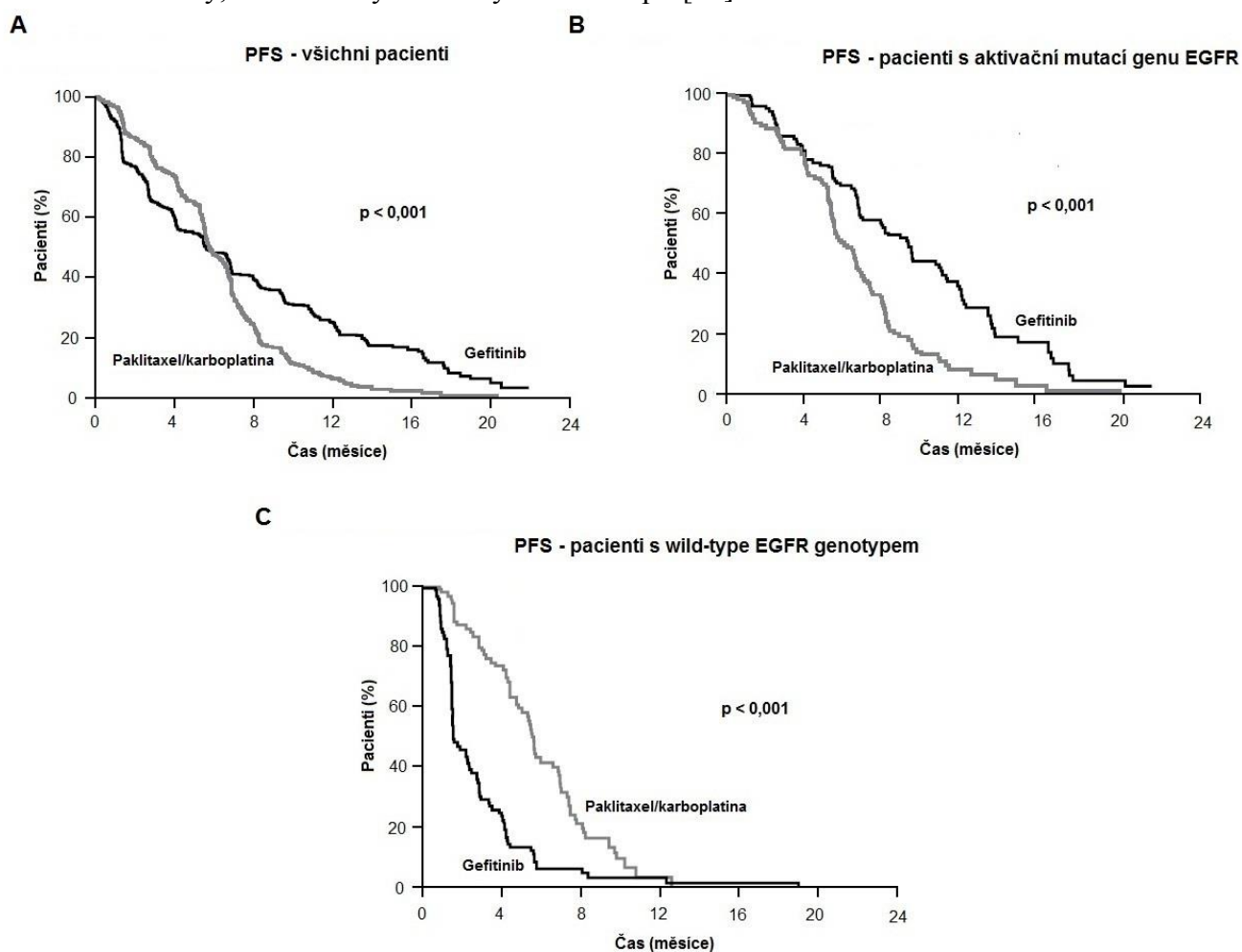


Obrázek 24 – Srovnání přežití pacientů ve studii INTEREST

Převzato a upraveno podle: KIM, E., S., et al., 2008 [95].

Ve studii **IPASS** byl gefitinib srovnáván s kombinací chemoterapie paklitaxel/karboplatina v první linii léčby pokročilého stadia NSCLC u selektované populace Asiatů, s adenokarcinomem, kteří byli nekuřáci, nebo příležitostní kuřáci. Jednalo se tedy o pacienty, u kterých byl dříve prokázán dobrý efekt léčby gefitinibem. Výsledky léčby bez ohledu na přítomnost aktivační mutace genu EGFR ukázaly srovnatelné PFS (5,7 vs. 5,8 měsíce, $p<0,001$) (**Obrázek 25A**). Subanalýza skupin podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR však jednoznačně ukázala prediktivní význam aktivačních mutací genu EGFR. U pacientů, kteří byli nositeli aktivační mutace genu EGFR bylo dosaženo významně delšího PFS při léčbě gefitinibem ve srovnání s chemoterapií (9,6 vs. 6,3 měsíce, $p<0,001$) (**Obrázek 25B**). Oproti tomu u pacientů, u kterých nebyla prokázána aktivační mutace genu EGFR bylo dosaženo delšího PFS při léčbě chemoterapií (5,5 vs. 1,6 měsíce, $p<0,001$) (**Obrázek 25C**).

Studie potvrdila lepší tolerabilitu gefitinibu, kdy léčba byla provázena méně často závažnými nežádoucími účinky, než tomu bylo u léčby chemoterapií [96].



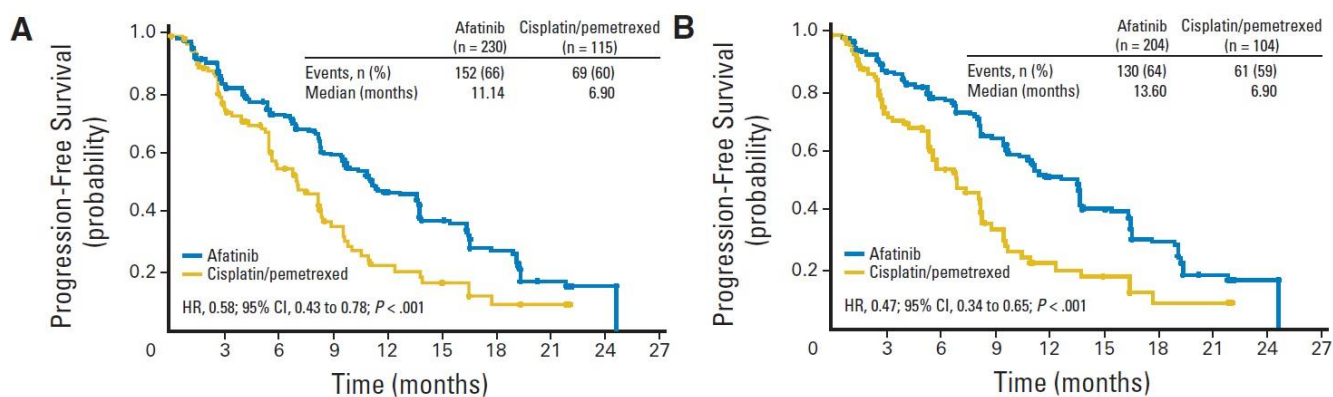
Obrázek 25 – Srovnání PFS ve studii IPASS u všech pacientů (**A**), u pacientů s aktivační mutací genu EGFR (**B**) a u pacientů s *wild-type* EGFR genem (**C**)
Převzato a upraveno podle: MOK, T., S., et al., 2009 [96].

Afatinib

Afatinib je perorální nízkomolekulární ireverzibilní inhibitor tyrozinkináz receptorů EGFR, HER2 a HER4. Často je označován jako zástupce EGFR-TKI druhé generace. Ireverzibilní blokády tyrozinkinázové aktivity receptoru je dosaženo kovalentní vazbou afatinibu. Preklinické studie ukázaly určitou efektivitu i u rezistentních EGFR mutací T790M, do čehož byly zpočátku vkládány naděje [97]. Efektivita a bezpečnost afatinibu byly zkumány v několika randomizovaných klinických studiích fáze III. Afatinib byl registrován pro prvoliniovou léčbu pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou aktivační mutací genu EGFR na základě výsledků dvou klíčových randomizovaných klinických studií fáze III, LUX-Lung 3 a LUX-Lung 6. Ve studii LUX-Lung 7 (studie fáze IIb) byl afatinib přímo srovnáván s gefitinibem v první linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou aktivační mutací genu EGFR, kde dosáhl lepších výsledků než gefitinib. Dále

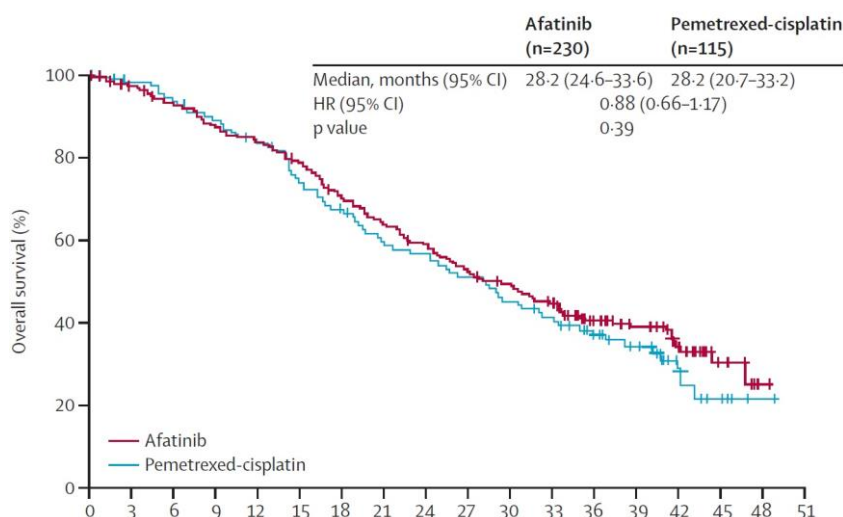
byl afatinib recentně srovnáván s erlotinibem v léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC skvamozního histologického typu, kde prokázal mírně lepší výsledky než erlotinib.

Ve studii **LUX-Lung 3** byl afatinib srovnáván proti kombinaci cisplatin+pemetrexed (do 6 cyklů, pemetrexed nebyl podáván v udržovací léčbě) v první linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, u kterých byla prokázána mutace genu EGFR. Do studie byli zahrnuti jak pacienti s klasickým typem aktivačních mutací genu EGFR (19 del., L858R), tak pacienti s méně častými typy EGFR mutace. Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení PFS u pacientů léčených afatinibem (11,1 vs. 6,9 měsíce, $p < 0,001$) oproti pacientům, kteří byli léčeni kombinací cisplatin/pemetrexed. Zajímavým zjištěním bylo, že pokud byli hodnoceni pouze pacienti s nádory s klasickým typem aktivační mutace genu EGFR, bylo dosaženo ještě markantnějšího prodloužení PFS (13,6 vs. 6,9 měsíce; $p < 0,001$) (**Obrázek 26**). Rozdíl v OS v celé populaci pacientů nebyl statisticky signifikantní (28,2 vs. 28,2 měsíce, $p = 0,39$) (**Obrázek 27**), ale subanalýza podle typu EGFR mutace ukázala, významné prodloužení OS ve skupině pacientů s delecí na exonu 19, kteří byli léčeni afatinibem oproti pacientům léčeným chemoterapií (33,3 vs. 21,1 měsíce, $p = 0,0015$). U pacientů s mutací typu L858R nebyl prokázán signifikantní rozdíl v OS mezi pacienty léčenými afatinibem a pacienty léčenými chemoterapií (27,6 vs. 40,3 měsíce, $p = 0,29$) (**Obrázek 28**). Nejčastěji popisované nežádoucí účinky byly průjem, papulopustulózní exantém a paronychia. Léčba afatinibem byla také efektivnější z hlediska potlačení symptomů onemocnění dle subjektivního hodnocení pacientů [98, 99].



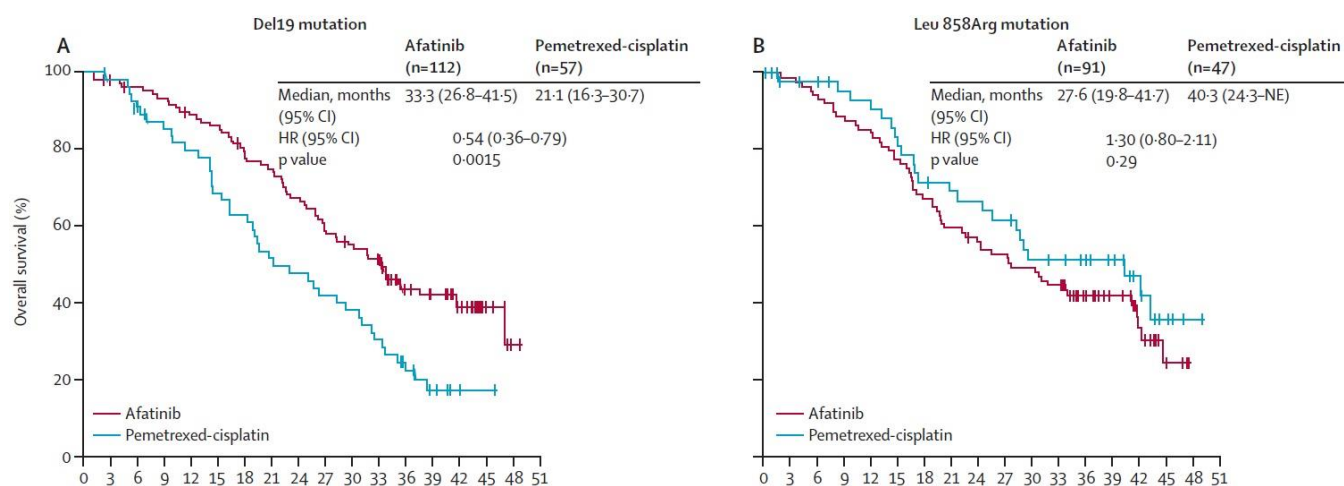
Obrázek 26 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 3 v celém souboru (**A**) a u pacientů s nádory s klasickou aktivační mutací genu EGFR (**B**)

Převzato a upraveno podle: SEQUIST, L., V., et al. 2013 [98].



Obrázek 27 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 3

Převzato a upraveno podle: YANG, J., C-H., et al. 2015 [99].



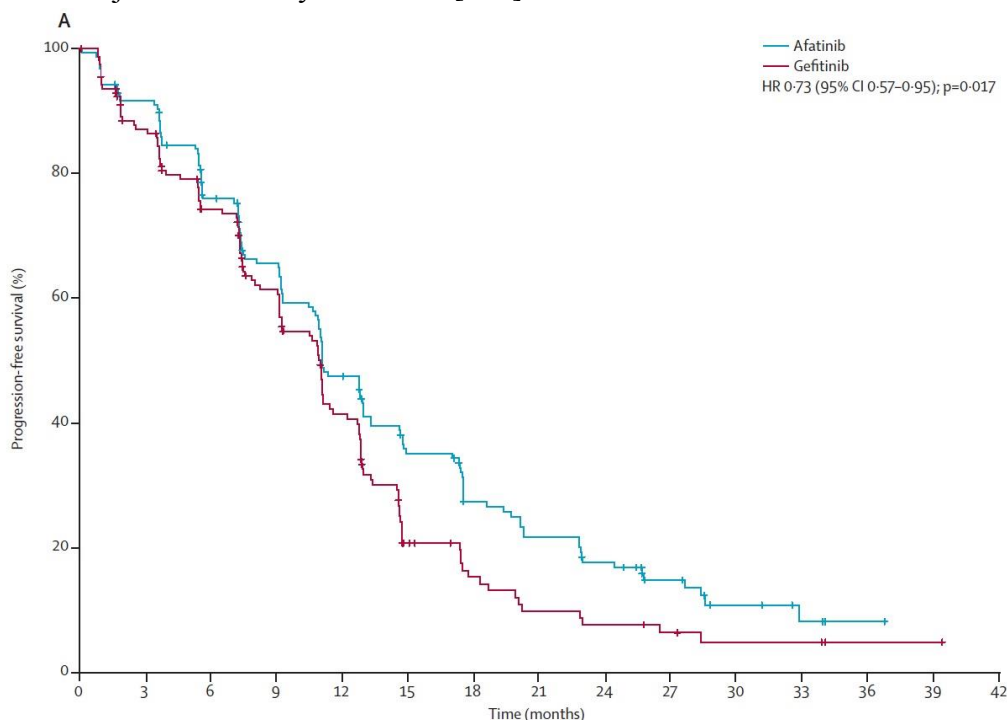
Obrázek 28 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 3 podle typu aktivační mutace genu EGFR (A - 19 del, B - L858R)

Převzato a upraveno podle: YANG, J., C-H., et al. 2015 [99].

Ve studii **LUX-Lung 6** byl afatinib srovnávan proti kombinaci cisplatina/gemcitabin v prvej linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, u ktorých byla prokázána mutace genu EGFR. Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení PFS u pacientů léčených afatinibem (11,0 vs. 5,6 měsíce, $p < 0,0001$) oproti pacientům, kteří byli léčeni kombinací cisplatina+gemcitabin. Obdobně jako ve studii LUX-Lung 3 bylo i zde zjištěno, že rozdíl v OS v celé populaci pacientů nebyl statisticky signifikantní (23,1 vs. 23,5 měsíce, $p = 0,61$), ale subanalýza podle typu EGFR mutace opět ukázala, významné prodloužení OS ve skupině pacientů s delecí na exonu 19, kteří byli léčeni afatinibem oproti pacientům léčeným chemoterapií (31,4 vs. 18,4 měsíce, $p = 0,023$). U pacientů s mutací typu L858R nebyl prokázán významný rozdíl v OS mezi pacienty léčenými afatinibem a pacienty léčenými chemoterapií (19,6 vs. 24,3 měsíce, $p = 0,34$). Studie rovněž

potvrdila příznivý bezpečnostní profil afatinibu a rovněž příznivý efekt na potlačení symptomů a zlepšení kvality života pacientů [99, 100].

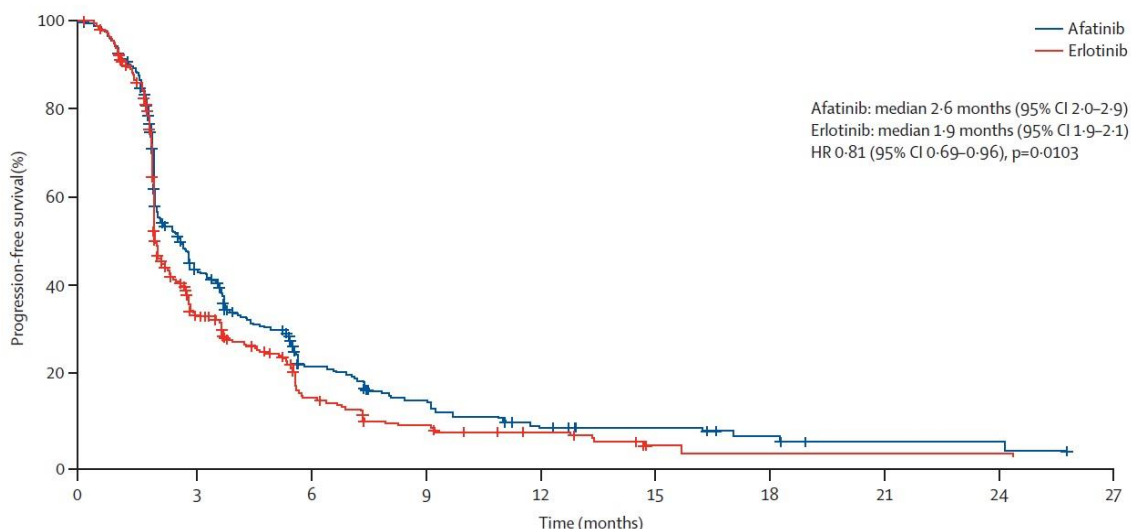
Ve studii **LUX-Lung 7** byl afatinib srovnáván proti gefitinibu v první linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, u kterých byla prokázána aktivační mutace genu EGFR. Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly statisticky signifikantní prodloužení PFS u pacientů léčených afatinibem (11,0 vs. 10,9 měsíce, $p=0,017$) oproti pacientům, kteří byli léčeni gefitinibem (**Obrázek 29**). Tento efekt je více markantní u pacientů dosahujících delšího PFS (proto se neprojeví výrazným rozdílem v mediánu PFS). To je zřejmě způsobeno parciálním efektem afatinibu na sekundárně vznikající rezistentní EGFR mutace T790M. Finální data OS zatím publikována nebyla, zatím dostupné výsledky předběžných analýz svědčí pro trend delšího OS u pacientů léčených afatinibem, který však nedosahuje statistické významnosti [101].



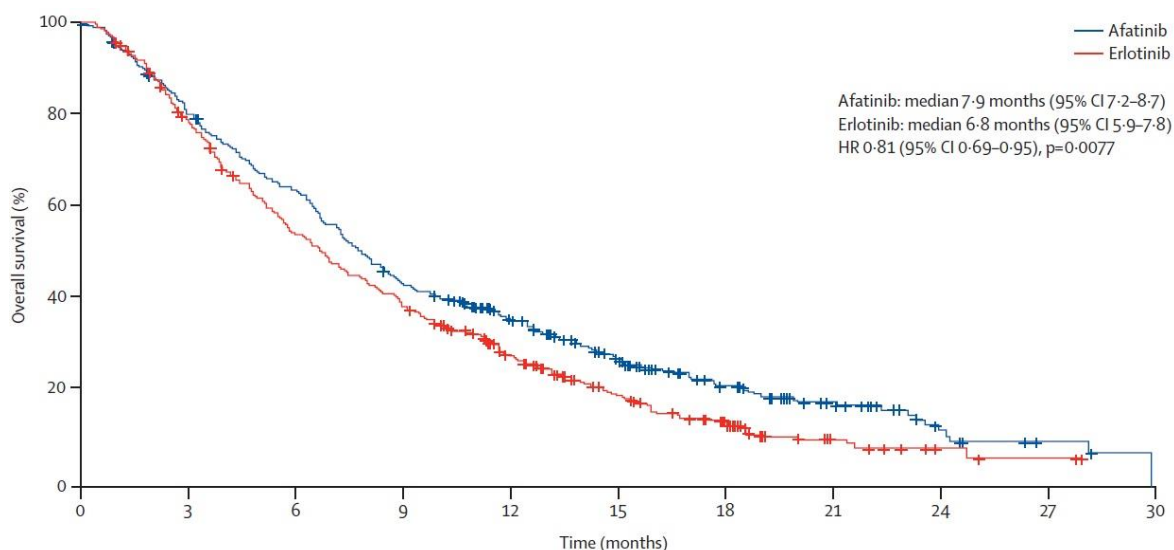
Obrázek 29 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 7

Převzato a upraveno podle: PARK, K., et al., 2016 [101].

Ve studii **LUX-Lung 8** byl afatinib srovnáván proti erlotinibu ve druhé linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC skvamózního histologického typu. Primárním cílem studie bylo PFS, sekundárním pak OS. Výsledky studie prokázaly statisticky signifikantní prodloužení PFS (2,4 vs. 1,9 měsíce, $p=0,0427$) i OS (7,9 vs. 6,8 měsíce, $p=0,0077$) u pacientů léčených afatinibem oproti pacientům, kteří byli léčeni erlotinibem (**Obrázky 30, 31**). Tolerance léčby byla u obou preparátů relativně dobrá, u afatinibu byl zaznamenán větší počet pacientů s průjemem a stomatitidou stupně 3, u erlotinibu byl zaznamenán větší počet pacientů s kožním exantémem stupně 3 [102].



Obrázek 30 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 8
Převzato a upraveno podle: SORIA, J-Ch., et al., 2015 [102].

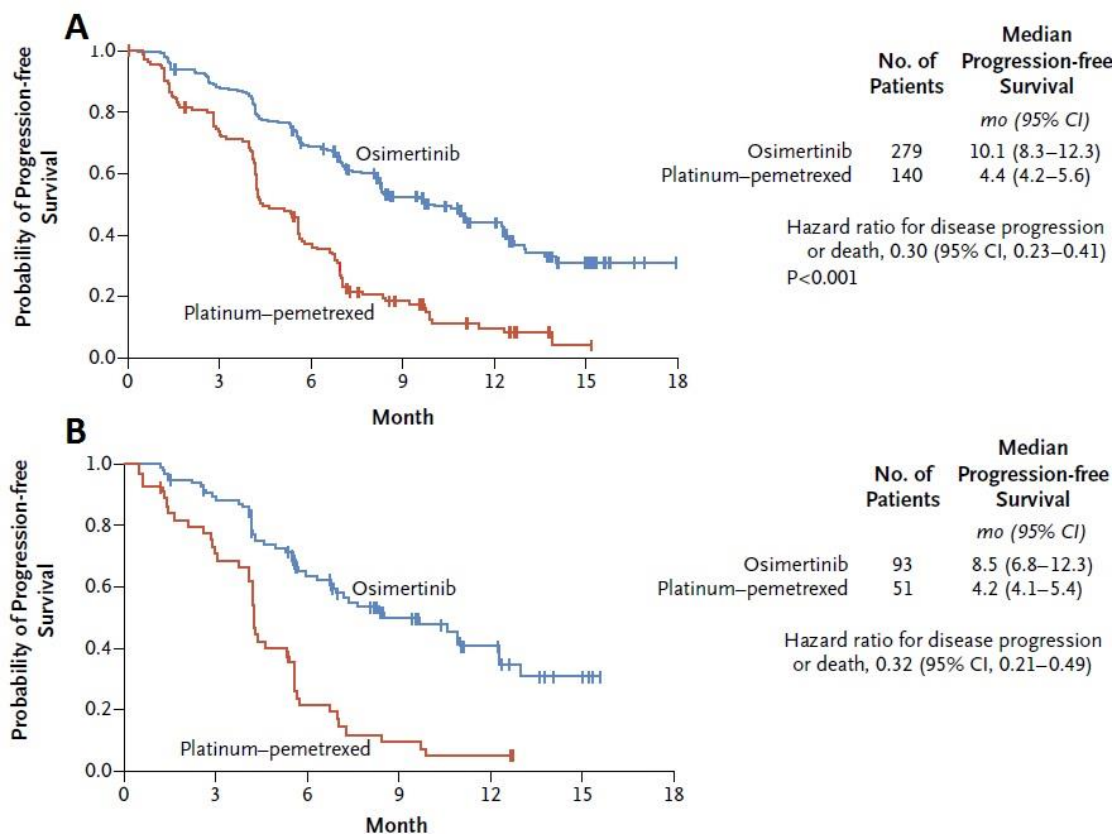


Obrázek 31 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 8
Převzato a upraveno podle: SORIA, J-Ch., et al., 2015 [102].

Osimertinib

Osimertinib je perorální nízkomolekulární ireverzibilní inhibitor tyrozinkináz EGFR, který je vysoce aktivní u nádorů nesoucích jak senzitivní aktivační mutace genu EGFR, tak rezistentní mutace T790M. Je označován jako EGFR-TKI třetí generace. Ireverzibilní blokády tyrozinkinázové aktivity receptoru je dosaženo kovalentní vazbou osimertinibu. Díky vysoké aktivitě u TKI rezistentních EGFR mutací T790M se logicky nabízí jeho využití zejména u pacientů s aktivační mutací EGFR po selhání EGFR-TKI první generace. Osimertinib prokázal bezpečnost a efektivitu v randomizované klinické studii fáze III, AURA 3. Účinnost osimertinibu v prvoliniové léčbě je v současné době cílem probíhajících klinických studií.

Ve studii **AURA 3** byl osimertinib srovnáván proti kombinaci cisplatin+emetrexed ve druhé linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s mutací genu EGFR po selhání EGFR-TKI, u kterých byla prokázána přítomnost mutace EGFR T790M jako původce získané rezistence. Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení PFS u pacientů léčených osimertinibem (10,1 vs. 4,4 měsíce, $p < 0,001$) oproti pacientům, kteří byli léčeni kombinací cisplatin+emetrexed (**Obrázek 32A**). Velmi dobrých výsledků bylo dosaženo i u prognosticky nepříznivé podskupiny pacientů s metastatickým postižením CNS (PFS: 8,5 vs. 4,2 měsíce) (**Obrázek 32B**). Osimertinib prokázal příznivý bezpečnostní profil ve srovnání s chemoterapií [103].



Obrázek 32 – Srovnání PFS pacientů ve studii AURA 3 (**A** - celá populace, **B** – pacienti s metastatickým postižením CNS)

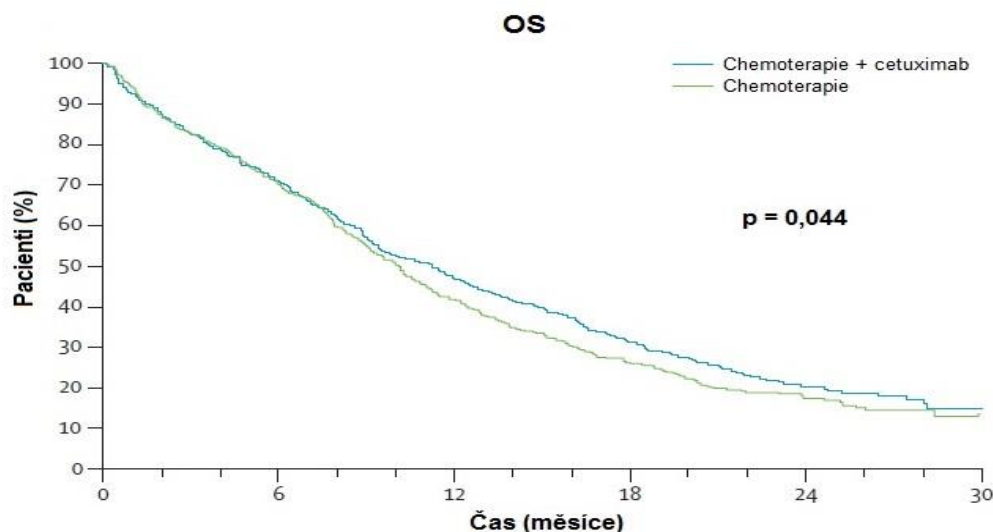
Převzato a upraveno podle: MOK, T., S., et al. 2016 [103].

Cetuximab

Cetuximab je intravenózně podávaná chimérická (lidská a myší) monoklonální protilátka, která se váže na extracelulární doménu EGFR. Cetuximab má vůči EGFR vyšší afinitu než jeho přirozené ligandy, působí tak jako kompetitivní inhibitor aktivace EGFR. Vzniklé komplexy receptor-protilátka jsou internalizovány a v lysozomech probíhá jejich degradace, dále dochází k down-regulaci exprese receptorů na povrchu nádorové buňky. Cetuximab také snižuje produkci některých růstových faktorů v buňkách nádoru (například TGF-alfa, VEGF). Důsledkem všech uvedených účinků cetuximabu je zastavení proliferace, indukce apoptózy a omezení angiogeneze [104]. Pro svůj synergistický účinek s chemoterapií i radioterapií je

s oběma léčebnými modalitami kombinován. V kombinaci s chemoterapií je standardně užíván k léčbě metastatického kolorektálního karcinomu. V kombinaci s radioterapií je standardně užíván k léčbě pokročilých karcinomů hlavy a krku. V léčbě pokročilého NSCLC byl cetuximab v klinických studiích většinou kombinován s chemoterapií do maximální dávky 6 cyklů chemoterapie a následně pak podáván v monoterapii do progresu onemocnění. Nejčastěji popisovaným nežádoucím účinkem cetuximabu je papulopustulózní exantém, jinými projevy kožní toxicity je xerodermie, trichomegalie a paronychia. Dalšími nežádoucími účinky mohou být průjmy nebo hypomagnezémie. Závažným nežádoucím účinkem, který může mít fatální následky je infuzní reakce, tato se však vyskytuje jen velmi vzácně [105]. Účinnost a bezpečnost cetuximabu v kombinaci s chemoterapií u pokročilého NSCLC byla studována ve dvou randomizovaných klinických studiích III. fáze, FLEX a BMS099.

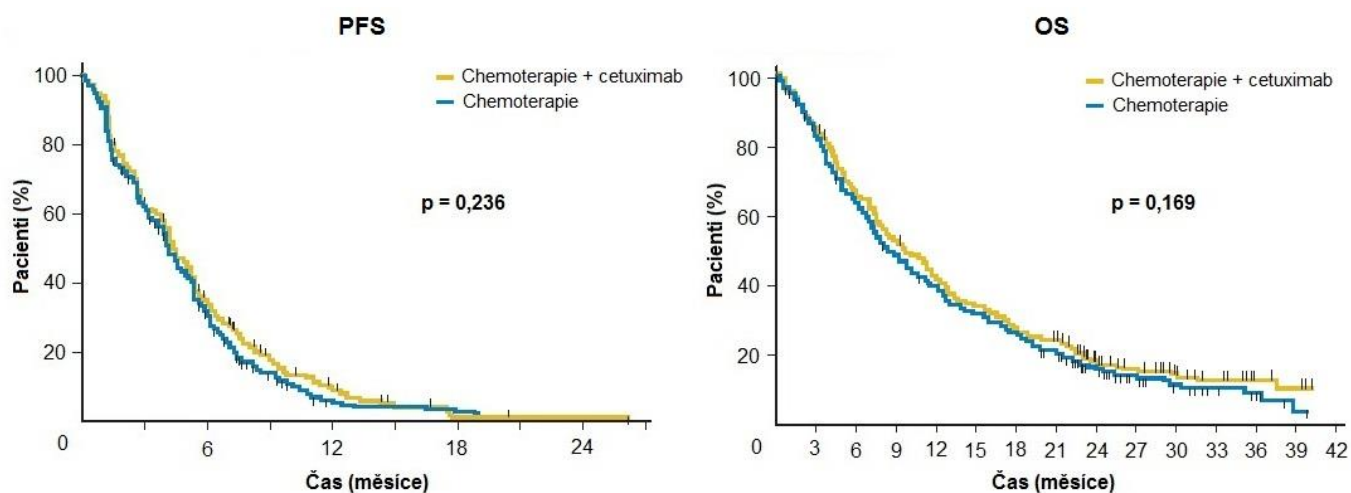
Studie **FLEX** byla zaměřena na srovnání efektivity a toxicity cetuximabu v kombinaci s chemoterapií vinorelbin/cisplatina oproti chemoterapii samotné v léčbě první linie pacientů s pokročilým NSCLC s prokázanou expresí EGFR v buňkách nádorové tkáně. Primárním cílem sledování bylo celkové přežití. Výsledky studie prokázaly prodloužení OS u pacientů léčených kombinací chemoterapie s cetuximabem (11,3 vs. 10,1 měsíce, $p=0,044$) a uspokojivou tolerabilitu této léčby (**Obrázek 33**). Subanalýza zaměřená na hledání potenciálních prediktivních biomarkerů prokázala delší přežívání pacientů, u kterých byla prokázána vysoká exprese EGFR [106].



Obrázek 33 – Srovnání OS pacientů ve studii FLEX

Převzato a upraveno podle: PIRKER, R., et al., 2011 [106].

Ve studii **BMS099** byl srovnáván cetuximab v kombinaci s chemoterapií paclitaxel/karboplatina nebo docetaxel/cisplatina oproti chemoterapii samotné v léčbě první linie pacientů s pokročilým NSCLC bez ohledu na expresi EGFR v buňkách nádorové tkáně. Primárním cílem sledování bylo přežití bez známek progresu. Výsledky této studie ukázaly srovnatelné PFS (4,4 vs. 4,24 měsíce, $p=0,236$) i OS (9,7 vs. 8,4 měsíce, $p=0,169$) v obou ramenech (**Obrázek 34**) [107].

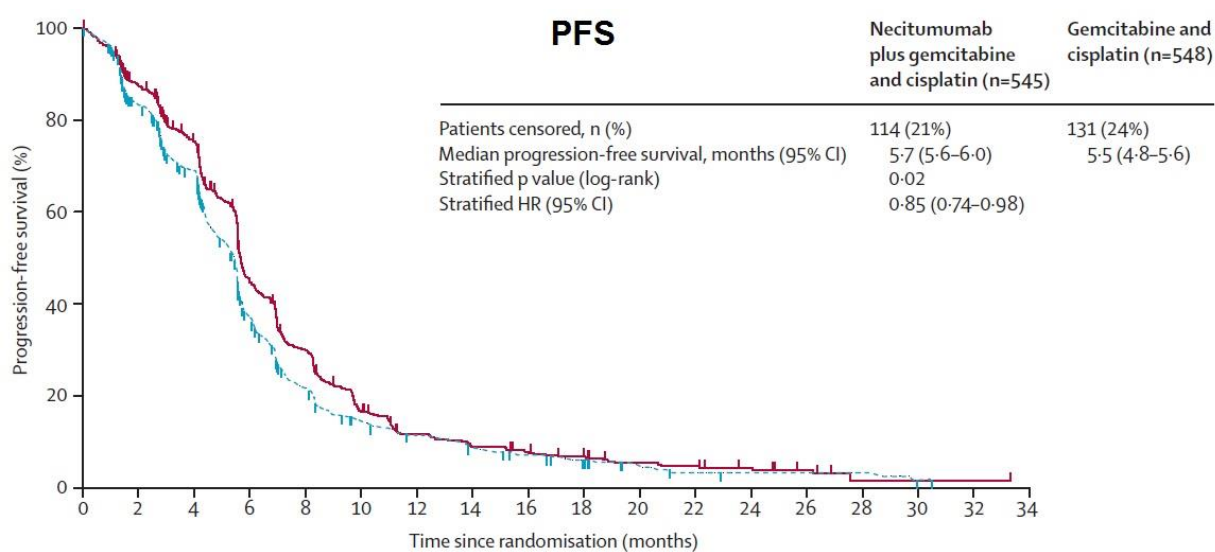


Obrázek 34 – Srovnání přežití pacientů ve studii BMS099
Převzato a upraveno podle: LYNCH, T., J., et al., 2010 [107].

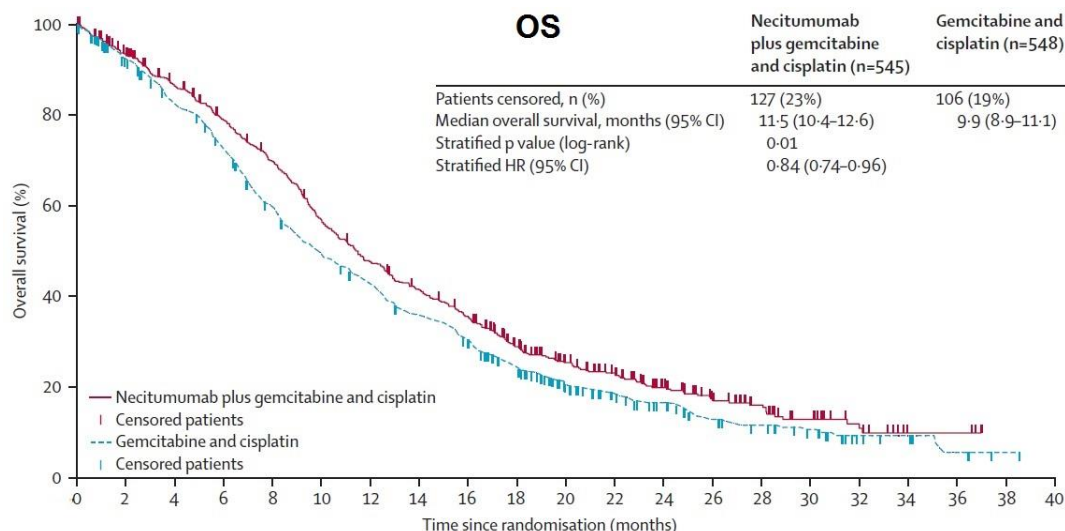
Necitumumab

Necitumumab je rekombinantní monoklonální protilátka proti EGFR druhé generace, která prokázala účinnost a bezpečnost v léčbě první linie u pacientů se pokročilým stadiem NSCLC skvamozního histologického typu.

V randomizované klinické studii fáze III, **SQUIRE**, byla srovnávána kombinace necitumumabu a chemoetrapie cisplatina/gemcitabin oproti chemoterapii samotné v prvoliniové léčbě pacientů se pokročilým stadiem NSCLC skvamozního histologického typu. Výsledky studie prokázaly signifikantní prodloužení OS (11,5 vs. 9,9 měsíců, $p = 0,012$) a PFS (5,7 vs. 5,5 měsíců, $p = 0,020$) u pacientů v rameni s necitumumabem (**Obrázky 35, 36**). Studie rovněž prokázala uspokojivý bezpečnostní profil necitumumabu, ačkoliv bylo v rameni s necitumumabem zaznamenáno více nežádoucích účinků stupně 3-4, a to hypomagnezemie (9% vs. 1%) a kožního exantém (4% vs. <1%) [108].



Obrázek 35 – Srovnání PFS ve studii SQUIRE
Převzato a upraveno podle: THATCHER, N., et al., 2015 [108].



Obrázek 36 – Srovnání OS ve studii SQUIRE

Převzato a upraveno podle: THATCHER, N., et al., 2015 [108].

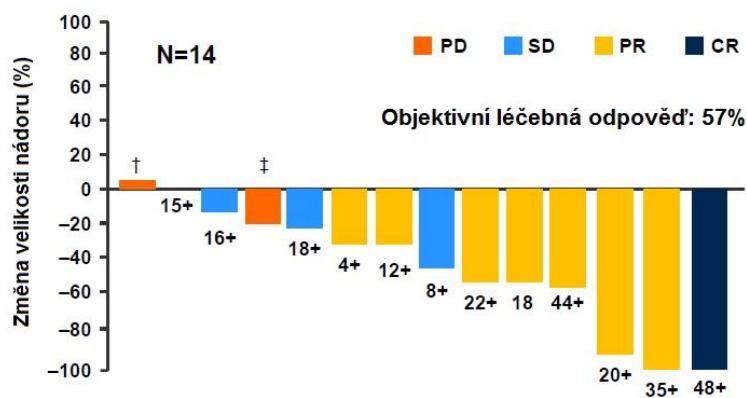
Crizotinib

Crizotinib je perorální nízkomolekulární tyrozinkinázový inhibitor anaplastické lymfomové kinázy (ALK) a c-Met (tyrozinkináza HGFR), které mají významnou úlohu v regulaci buněčného růstu, migrace a invazivity nádorových buněk i endotelií [109]. Přestavba genu ALK, nejčastěji v podobě translokace EML4-ALK, představuje genetickou alteraci, která je významným triggerem kancerogeneze u cca 3-4% pacientů s NSCLC, právě u těchto pacientů byla prokázána vysoká účinnost léčby crizotinibem [110]. Novější studie ukázaly, že crizotinib je vysoce účinný také u pacientů s přestavbou genu ROS1 (**Obrázek 37**) [111]. Crizotinib je standardně užíván k léčbě selektované populace pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou translokací ALK po selhání chemoterapie první linie [40, 41]. Efektivita a bezpečnost léčby crizotinibem po selhání prvoliniové chemoterapie byly prokázány v randomizované klinické studii fáze III, PROFILE1007. Recentně byla vysoká účinnost crizotinibu prokázána i u pacientů léčených v první linii v randomizované klinické studii fáze III, PROFILE1014. Brzy lze tedy zřejmě očekávat rozšíření standardního užívání crizotinibu v první linii i v našich podmínkách.

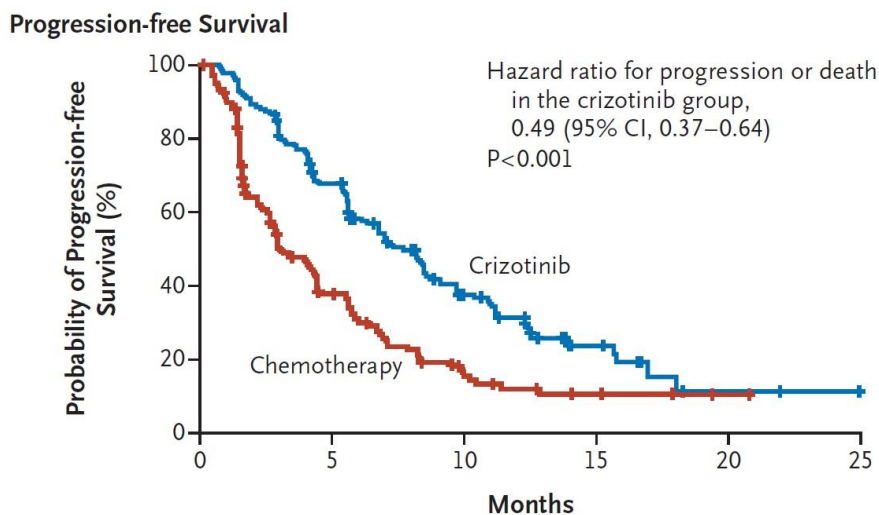
Ve studii **PROFILE1007** byl crizotinib srovnáván se standardní chemoterapií (docetaxel, pemetrexed) po selhání chemoterapie první linie, založené na platinovém dubletu, u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou translokací ALK (většinou EML4-ALK). Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly signifikantní prodloužení PFS (7,7 vs. 3,0 měsíce, $p < 0,001$) u pacientů léčených crizotinibem (**Obrázek 38**), rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní ($p = 0,54$), zřejmě pro vysokou míru cross-overu. Výsledky studie potvrdily příznivý bezpečnostní profil crizotinibu. Ve srovnání s chemoterapií zde byla menší četnost závažných nežádoucích účinků a rovněž bylo u pacientů léčených crizotinibem dosaženo zlešení subjektivně vnímané kvality života (**Obrázek 39**). Nejčastěji popisovanými

nežádoucími účinky byly: nechutenství, nausea, zvracení, průjem, kožní exantém a poruchy vidění [112].

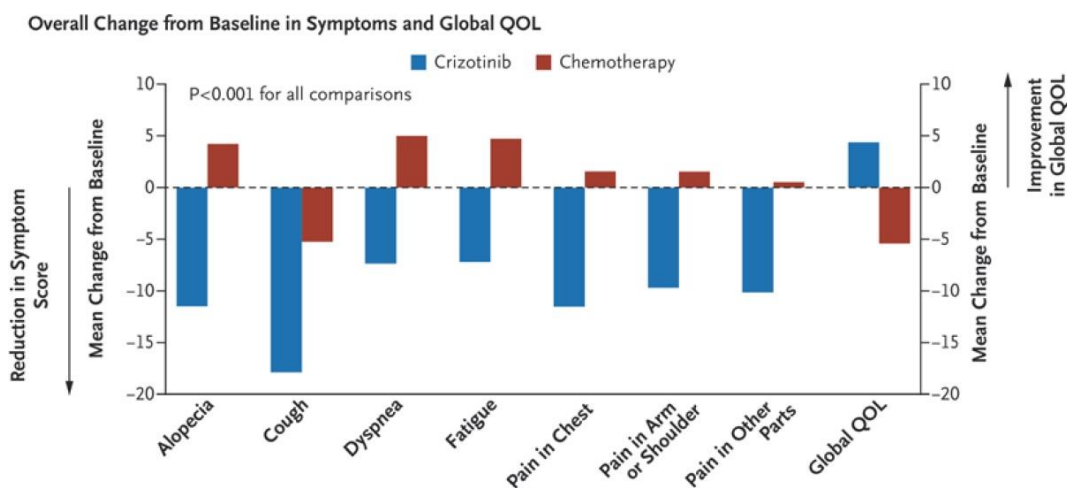
Ve studii **PROFILE1014** byl crizotinib srovnáván se standardní prvoliniovou chemoterapií (pemetrexed/platinový derivát) u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou translokací ALK (většinou EML4-ALK). Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly opět signifikantní prodloužení PFS (10,9 vs. 7,0 měsíce, $p < 0,001$) (**Obrázek 40**) u pacientů léčených crizotinibem. Obdobně jako v předchozí studii, ani zde nebyl rozdíl v OS signifikantní ($p = 0,36$), ale v době vyhodnocení publikovaných dat nebylo dosaženo mediánu OS. Ve studii byl rovněž prokázán příznivý bezpečnostní profil crizotinibu [113].



Obrázek 37 – Léčebná odpověď u pacientů s přestavbou genu ROS1 léčených crizotinibem
Převzato a upraveno podle: SHAW, A. T., et al., 2012 [111].

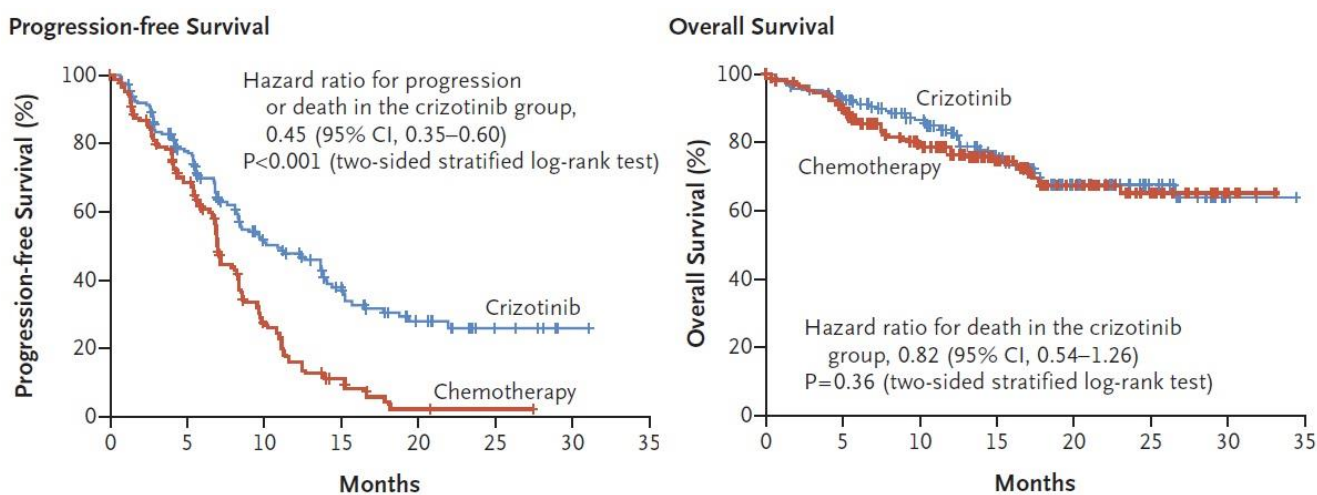


Obrázek 38 – Srovnání PFS pacientů ve studii PROFILE1007
Převzato a upraveno podle: SHAW, A., T., et al., 2013 [112].



Obrázek 39 – Srovnání změny symptomů nemoci během léčby a kvality života (QoL) pacientů ve studii PROFILE1007

Převzato a upraveno podle: SHAW, A., T., et al., 2013 [112].



Obrázek 40 – Srovnání PFS a OS pacientů ve studii PROFILE1014

Převzato a upraveno podle: SOLOMON, B., J., et al., 2014 [113].

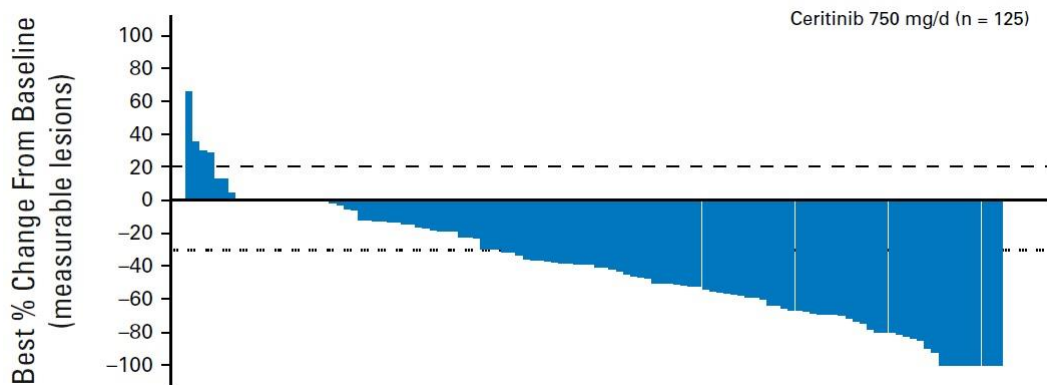
Ceritinib

Ceritinib je nízkomolekulární perorální inhibitor tyrozinkináz receptorů ALK a IGF-1 [114]. Byl registrován pro léčbu po selhání crizotinibu u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou translokací ALK na základě příznivých výsledků klinických studií fáze I a II, ASCEND-1 a ASCEND-2 [115, 116]. Užití ceritinibu u pacientů nepředlčených crizotinibem bylo zkoumáno v klinických studiích II. a III. fáze, ASCEND-3 a ASCEND-4.

V nerandomizované klinické studii **ASCEND-2** byla hodnocena efektivita a bezpečnost ceritinibu u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou přestavbou ALK po selhání chemoterapie a crizotinibu. Hlavním cílem studie byla objektivní léčebná odpověď. Výsledky studie prokázaly dosažení objektivní léčebné odpovědi (*overall response rate*, ORR) u 38,6% pacientů, kontroly onemocnění (*disease control rate*, DCR) bylo dosaženo u 77,1% pacientů, medián PFS byl 5,7 měsíce (**Obrázek 41**). Nejčastěji popisované nežádoucí účinky byly

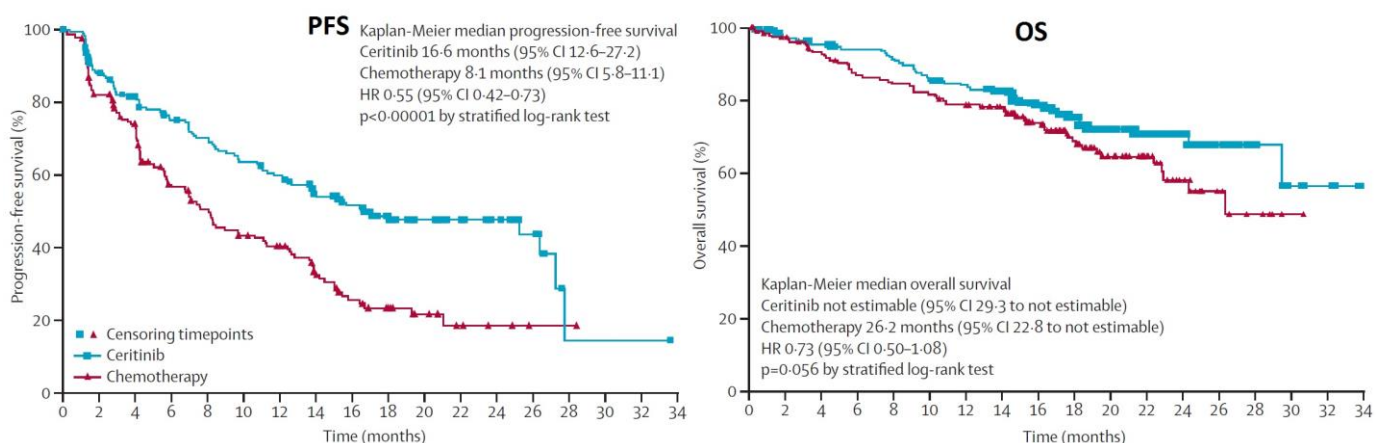
nausea, průjem a zvracení. Ve studii bylo dosaženo uspokojivých výsledků i u prognosticky značně nepříznivé podskupiny pacientů s metastatickým postižením mozku. Výsledky studie rovněž prokázaly příznivý efekt léčby na kontrolu symptomů nemoci [116].

V randomizované klinické studii fáze III **ASCEND-4** byl ceritinib srovnáván se standardní prvoliniovou chemoterapií (pemetrexed/platinový derivát) u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou translokací ALK. Primárním cílem studie bylo PFS. Výsledky studie prokázaly signifikantní prodloužení PFS (16,6 vs. 8,1 měsíce, $p < 0,00001$) (**Obrázek 42**) u pacientů léčených ceritinibem. Předběžné výsledky neukázaly signifikantní rozdíl v OS, nicméně zde byl patrný trend delšího přežití pacientů léčených ceritinibem. Faktem je, že v době analýzy výsledků většina pacientů žila, takže nebylo dosaženo hodnoty mediánu. Stran OS je tedy ještě třeba vyčkat finálních výsledků. Ve studii byl prokázán příznivý bezpečnostní profil ceritinibu, z nežádoucích účinků byly nejčastěji popisovány: průjem (85%), nauzea (69%), zvracení (66%) a elevace transamináz (60%) [117].



Obrázek 41 – Léčebná odpověď (změna velikosti měřitelných lézí) pacientů ve studii ASCEND-2

Převzato a upraveno podle: CRINO, L., et al., 2016 [116].



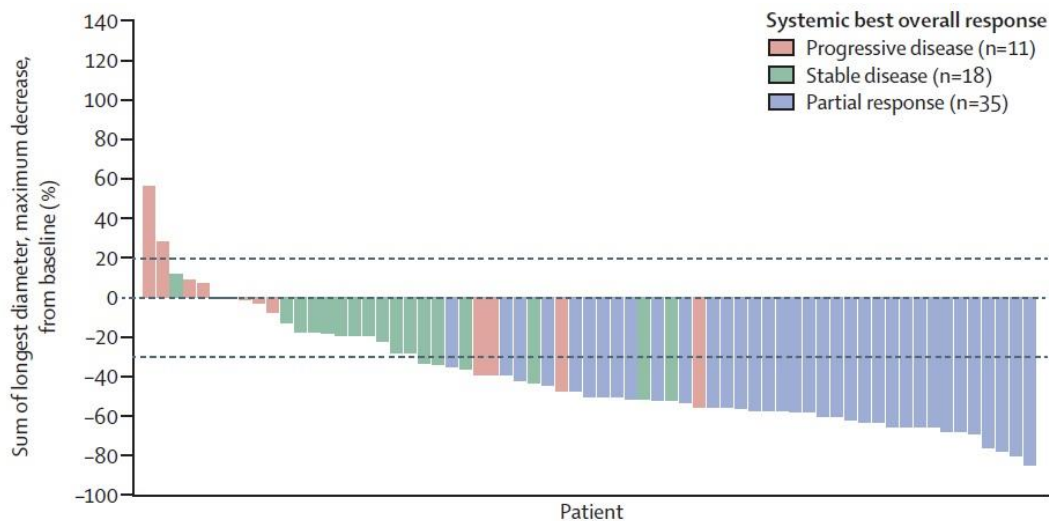
Obrázek 42 – Srovnání PFS a OS pacientů ve studii ASCEND-4

Převzato a upraveno podle: SORIA, J-CH., et al., 2017 [117].

Alectinib

Alectinib je nízkomolekulární perorální inhibitor tyrozinkináz receptorů ALK a RET [118]. Jde o nejnovější ALK inhibitor, který byl recentně registrován k léčbě pacientů s ALK translokací po selhání léčby crizotinibem. Účinnost a bezpečnost alectinibu v léčbě NSCLC byly zkoumány v několika klinických studiích fáze I a II.

Výsledky studie fáze II, publikované autory Shaw et al., potvrzují účinek i bezpečnost alectinibu. Objektivní léčebné odpovědi bylo dosaženo u 48% pacientů a medián doby jejího trvání činil 13,5 měsíce, medián PFS činil 8,1 měsíce (**Obrázek 43**). Alectinib zde prokázal i příznivé účinky u pacientů s metastatickým postižením mozku, kde u 25% (4/16) pacientů bylo dosaženo CR a u 50% (8/16) pacientů bylo dosaženo PR. [119].



Obrázek 43 – Léčebná odpověď pacientů léčených alectinibem v klinické studii fáze II
Převzato a upraveno podle: SHAW, A., T., et al., 2016 [119].

Imunoterapie v léčbě NSCLC

Imunitní systém sehrává nezastupitelnou úlohu v obraně organismu proti infekcím, ale zároveň také v obraně před vznikem nádorového onemocnění, případně v boji s již vzniklým nádorovým onemocněním. Paradigma tzv. imunologického dohledu (*tumor immune-surveillance*) je založené na tom, že jednou z hlavních rolí imunitního systému je časná eliminace transformovaných buněk předtím, než budou tyto buňky schopny vytvořit nádorovou masu. Mechanismy protinádorové imunity kontrolují růst nádorových buněk zejména v raných stádiích karcinogeneze a ve stadiu preneoplazie. S pokročilým růstem nádoru mohou být tyto imunitní mechanismy různým způsobem paralyzovány, a dokonce mohou proliferaci nádorových buněk podporovat. Významný rozvoj imunologie v posledních letech vedl k porozumění klíčovým procesům, které se uplatňují v regulaci imunitních reakcí na molekulární úrovni a zároveň porozumění některým mechanismům úniku nádorových buněk imunitnímu systému. Tento rozvoj imunologie, v kombinaci s rozvojem cílené léčby umožnil vznik nového směru systémové onkologické léčby, který je označován jako imunoterapie. Hlavním cílem imunoterapie v onkologii je překonat mechanismy úniku nádorových buněk imunitnímu systému a stimulovat vlastní protinádorovou imunitní reakci na různých úrovních. Oproti chemoterapii nebo radioterapii má imunoterapie, všeobecně, schopnost ničit nádorové buňky vysoce selektivně a nezávisle na jejich generačním cyklu. Populace nádorových buněk není ničena frakcionovaně, nýbrž může být eradikována absolutně, pokud není příliš početná [60, 120-124]. Určitým specifickým znakem imunoterapie je často opožděný nástup účinku, neboť aktivace imunitního systému může trvat řádově týdny až měsíce. To znamená, že i nově vzniklé léze, které se během počáteční léčby objeví, mohou později regresovat. Tento aspekt byl impulsem k vytvoření nových kritérií pro hodnocení objektivní léčebné odpovědi u pacientů léčených imunoterapií, označovaných jako tzv. *immune-related Response Criteria* (irRC) [125, 126]. Dalším překonáním imunotolerance vůči nádoru může být provázeno nežádoucím porušením imunotolerance vůči „normálním tkáním“. Důsledkem toho je pak vznik nežádoucích účinků, které se svým charakterem blíží autoimunitním onemocněním (*immune related adverse events*, ir-AEs). Tyto jsou pro imunoterapii, do značné míry, specifické. Nejčastěji se zde můžeme setkat s kožní toxicitou, kolitidou, hepatotoxicitou a endokrinopatiemi.

Imunoterapie našla v minulosti významné uplatnění zejména v léčbě renálního karcinomu a maligního melanomu. V poslední době se imunoterapie, s velmi dobrým efektem, začíná uplatňovat v léčbě řady dalších nádorových onemocnění, včetně NSCLC.

Základní mechanismy protinádorové imunity

Protiinfekční a protinádorová obrana zabezpečovaná imunitním systémem zahrnují v principu velmi podobné mechanismy účinku. Tyto mechanismy jsou zajišťovány celým složitým komplexem specifických i nespecifických reakcí, jejichž společným cílem je destrukce nádorové buňky. Zásadní význam zde sehrávají zejména mechanismy buněčné imunity. Nádorové buňky se od normálních buněk organismu liší částečně pozměněným antigenním složením. Jde zejména o expresi různých nádorových neoantigenů, které vznikají jako důsledek množství genetických změn vznikajících v nádorové buňce. Zde je podstatné,

zda může takový neoantigen plnit funkci tzv. rejekčního antigenu, tedy zda umožní rozpoznání nádorové buňky imunitním systémem a zahájení imunitní reakce, která povede k destrukci nádorové buňky. Tento proces je však poměrně komplikovaný a podléhá složitému systému regulace. Vlastní eliminace nádorových buněk je zprostředkována zejména cytotoxickými T-lymfocyty CD8+. Tyto je možné izolovat z nádorového stromatu, kde jsou označovány jako tzv. tumor infiltrující lymfocyty (*tumor infiltrating lymphocytes, TIL*). Cytotoxické T-lymfocyty jsou schopny identifikovat nádorové antigenní epitopy pouze ve formě peptidů, které vznikají jako konečný výsledek nitrobuněčné degradace nádorových proteinů a jsou exprimovány na povrchu nádorových buněk v komplexu s vlastními MHC molekulami I. třídy (hlavní histokompatibilní komplex - *major histocompatibility complex, MHC*). Normální aktivace cytotoxických T-lymfocytů však vyžaduje složitý regulační proces označovaný jako kostimulace, který je zprostředkován pomocnými T-lymfocyty CD4+. Pomocné T-lymfocyty CD4+ se musí nejdříve setkat s nádorovým antigenem exprimovaným pomocí MHC molekul II. třídy na povrchu antigen prezentujících buněk (*antigen presenting cells, APC*), které představují zejména dendritické buňky a makrofágy, v menší míře také některé další buňky (např. B-lymfocyty, Langerhasovy buňky kůže, aj.). Tato tzv. zkřížená prezentace antigenu (*cross-presentation*) zajišťuje vysokou specificitu imunitních reakcí. APC fagocytují apoptotické a nekrotické nádorové buňky, soubor nádorových antigenů je pak degradován v lysozomech APC, jejich fragmenty jsou následně exprimovány na membráně APC v komplexu MHC molekul II. třídy spolu s kostimulačními molekulami (B7-1/CD80, B7-2/CD86, LFA3, ICAM1-3). K aktivaci imunitní reakce zprostředkované pomocnými T-lymfocyty CD4+ je tedy nutná **stimulace**, kterou představuje vazba komplexu MHC+imunogen na T-buněčný receptor (*T-cell receptor, TCR*) a zároveň **kostimulace**, která vzniká vazbou kostimulačních molekul na příslušné receptory T-lymfocytu (CD152/CTLA-4). Takto aktivované pomocné T-lymfocyty CD4+ následně aktivují cytotoxické T-lymfocyty CD8+ a zároveň produkují různé cytokiny, které mají přímé protinádorové účinky (TNF, IFN-gama), zvyšují expresi MHC molekul I. třídy na nádorových buňkách a stimulují složky přirozené imunity (makrofágy, NK-buňky). Další významnou složku protinádorové imunity představují NK-buňky, které jsou schopné likvidovat nádorové buňky se sníženou expresí MHC molekul I. třídy, které mohou snadno uniknout mechanismům adaptivní imunity zprostředkované pomocnými T-lymfocyty CD4+. Určitou roli při likvidaci nádorových buněk hrají také aktivované makrofágy, ale to zejména jako buňky prezentující antigen. Humorální složka adaptivní imunity, kterou představují protilátky produkované aktivovanými B-lymfocyty, sehrává v protinádorové imunitě zřejmě jen méně významnou úlohu [60, 120-124].

Mechanismy úniku nádorových buněk imunitním mechanismům

Strukturální podobnost nádorových buněk s normálními buňkami a celá řada specifických mechanismů úniku nádorové buňky imunitním mechanismům jsou hlavní příčinou toho, že imunitní reakce na nádorové buňky je obecně slabší než na cizorodé antigeny běžných infekčních patogenů.

Mezi specifické mechanismy úniku nádorových buněk imunitním mechanismům lze uvést například [60, 120]:

- Strukturální variabilita nádorových buněk a vznik mutantních forem, které příslušný nádorový antigen ztratily nebo pozměnily.
- Nízká exprese nádorových antigenů a selekce na antigen chudých klonů.
- Nízká exprese MHC molekul I. třídy.
- Produkce cytokinů potlačujících protinádorovou imunitní reakci (TGF β , IL-10).
- Exprese apoptotického proteinu FasL (Fas ligand), která indukuje apoptózu v protinádorových T-lymfocytech.
- Nízká exprese kostimulačních molekul.
- Zvýšená exprese inhibičních molekul, jako je CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*, cytotoxický antigen asociovaný s T-lymfocyty, CTLA-4) nebo PD-1 (*programmed cell death-1*, membránový protein programované buněčné smrti).

Základní principy protinádorové imunoterapie a její formy

Do imunitního systému je možné terapeuticky zasáhnout mnoha způsoby a v současné době se v protinádorové imunoterapii používá, nebo je zkoumána řada preparátů založených na různém mechanismu účinku. Obecně se tyto mechanismy dají rozdělit na antigenně nespecifické a antigenně specifické.

Antigenně nespecifická stimulace imunitního systému

Mechanismus antigenně nespecifické stimulace imunitního systému spočívá ve stimulaci základních funkcí imunitního systému nezávisle na specificitě nádorového antigenu. Protinádorová imunitní reakce tak může být zvýšena nespecifickou stimulací imunitního systému látkami, které vyvolávají zánětlivou odpověď, nebo vedou k polyklonální aktivaci lymfocytů. Mezi nespecifické imunostimulační metody, které se v současné klinické praxi v onkologii solidních nádorů používají nebo jsou zkoumány, patří: cytokiny, nespecifická stimulace zánětlivé reakce a checkpoint inhibitory.

Cytokiny

Cytokiny je souhrnné označení pro molekuly, které se významným způsobem podílejí na regulaci imunitní reakce na různých úrovních. Jde o látky polypeptidové povahy. Cytokiny můžeme rozdělit na několik základních skupin: interleukiny, chemokiny, lymfokiny, monokiny, růstové faktory a proapoptotické molekuly (tzv. *death ligandy*). Biologické účinky cytokinů jsou často pleiotropní, mohou vykazovat vzájemně aditivní synergistické účinky nebo účinky antagonistické, mohou indukovat nebo potlačovat syntézu dalších cytokinů.

Podle specifické funkce lze orientačně dělit cytokiny na regulátory vrozené a adaptivní imunity (zejména interferony a interleukiny) a regulátory krvetvorby (hematopoetické růstové faktory). Cytokiny interagují se specifickými buněčnými receptory. Na výsledném efektu se podílí exprese daného cytokinu, ale také exprese specifického receptoru a funkční stav příslušné signální dráhy, který může být alterován působením dalších cytokinů, nebo jiných působků. V klinické praxi našly největší uplatnění IL-2 v léčbě renálního karcinomu a interferon alfa u maligního melanomu. Významnou limitací léčebného využití cytokinů představuje jejich relativně vysoká toxicita v protinádorově účinné dávce a nevýhodná farmakokinetika. S nástupem moderních léků je, v současné době poměrně velký odklon od užívání cytokinů a jejich využití, i ve zmíněných indikacích, je v našich podmínkách již téměř minimální. Cytokiny neměly a nemají uplatnění v léčbě NSCLC [60, 120-124].

Checkpoint inhibitory

Imunitní reakce, včetně imunity protinádorové, podléhají složitému systému regulace. O mechanismech vedoucích k aktivaci imunitní reakce (stimulace a kostimulace) bylo pojednáno v předchozím textu, velký význam mají však rovněž inhibiční regulační mechanismy. Jejich smyslem je bránit abnormální aktivaci imunitní reakce, která by mohla vést k autoimunitnímu poškození zdravých tkání organismu. Molekulární podstatou těchto mechanismů je exprese tzv. inhibičních molekul, tedy molekul, které brání aktivaci nebo inaktivují imunitní reakci. Tento kontrolní mechanismus je souhrnně označován jako tzv. imunitní *checkpoint*. Nejčastěji zkoumané, a jako cíl imunoterapie využívané, jsou inhibiční molekuly CTLA-4 a PD-1. V počátku imunitní reakce exprimují aktivované T-lymfocyty (CD4+ i CD8+) zejména kostimulační molekuly CD28, ale po určité době trvání této aktivace začínají ve větší míře exprimovat inhibiční molekuly CTLA-4. Vazba mezi ligandy CD80/CD86 a CTLA-4 je mnohonásobně silnější než jejich vazba s kostimulační molekulou CD28, výsledným efektem je inhibice imunitní reakce. PD-1 je exprimován na aktivovaných T- a B-lymfocytech. V nádorovém mikroprostředí je aktivován vazbou ligandů PD-L1 a PD-L2, které mohou být exprimovány T- a B-lymfocyty, APC, NK-buňkami, ale i nádorovými buňkami. Důsledkem vazby ligandu na PD-1 na povrchu T-lymfocytů je jejich inaktivace a indukce apoptózy. CTLA-4 se jako negativní regulátor imunity uplatňuje zejména v časně fázi aktivace T-lymfocytů při jejich aktivaci APC (především na úrovni lymfatických uzlin), zatímco PD-1 se uplatňuje především v efektorové fázi inaktivací cytotoxických T-lymfocytů (na periférii či v nádorovém mikroprostředí). Tyto inhibiční mechanismy jsou z hlediska protinádorové imunity značně nevýhodné a nádorové buňky jich umí velmi dobře využít k úniku imunitnímu systému. Blokáda zmiňovaných kontrolních bodů imunitní reakce pomocí imunomodulačních monoklonálních protilátek, tzv. *check-point* inhibitorů, tak představuje velmi efektivní způsob stimulace protinádorové imunitní reakce a je za tímto účelem v imunoterapii maligních nádorů hojně využívána. Monoklonální protilátky proti CTLA-4 (ipilimumab) a PD-1 (nivolumab, pembrolizumab), jsou dnes již běžně využívány v léčbě maligního melanomu a postupně nacházejí své uplatnění v léčbě u dalších malignit, včetně NSCLC [60, 120-122, 127].

Antigeně specifická stimulace imunitního systému

Mechanismus antigeně specifické stimulace imunitního systému spočívá ve stimulaci imunitní reakce cíleně proti specifickému nádorovému antigenu. Mezi specifické imunostimulační metody, které se v současné klinické praxi v onkologii solidních nádorů používají nebo jsou zkoumány patří: monoklonální protilátky, nádorové vakcíny a metody buněčné imunoterapie [60, 120].

Monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky cílené proti specifickým nádorovým antigenům je možné, díky jejich mechanismu účinku, řadit do cílené léčby, kde byly podrobně diskutovány v předchozím textu. Důsledkem vazby protilátky na některé specifické struktury exprimované na povrchu nádorových buněk (většinou receptory pro růstové faktory, např. EGFR), je pak nejen inhibice důležité signální dráhy, ale též aktivace imunitní reakce vůči nádorovým buňkám nesoucím příslušný antigen [60].

Protinádorové vakcíny

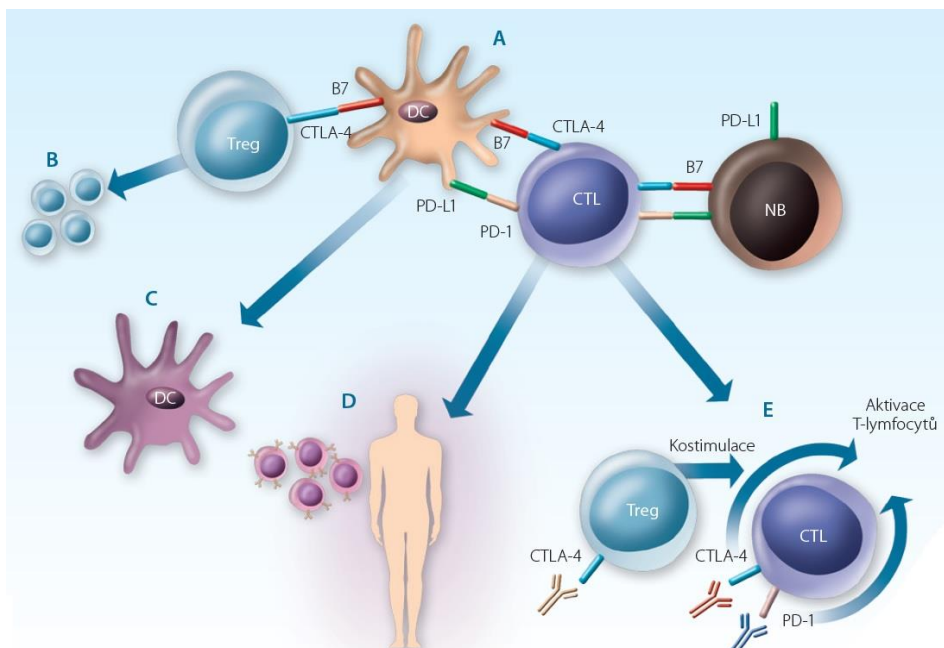
Základní princip účinku protinádorových vakcín spočívá v indukci specifické imunitní reakce proti nádoru podáním různě upravených antigenů přítomných na nádorových buňkách, většinou v kombinaci s imunostimulačním adjuvans, které má zvýšit schopnost antigenu stimulovat imunitní systém. V minulosti bylo zkoumáno mnoho typů protinádorových vakcín u různých zhoubných nádorů. Ve většině případů se však tento způsob imunoterapie neseťkal s velkým úspěchem. Nedostatečná účinnost protinádorových vakcín spočívá zřejmě v mechanismech nádorové tolerance, které zabraňují vzniku dostatečného počtu protinádorových T-lymfocytů po imunizaci [60, 120-125, 127]. U NSCLC byly v minulosti testovány různé protinádorové vakcíny, zejména v rámci adjuvantní léčby u pacientů s časným stadiem NSCLC, kteří podstoupili radikální chirurgický výkon. Bohužel tyto studie nevedly k výraznému úspěchu a imunoterapie pomocí protinádorových vakcín není v současné době užívána v klinické praxi. Z neúspěšných randomizovaných klinických studií fáze III lze uvést například MAGRIT, START a STOP [128-130].

Ve studii **MAGRIT** byl hodnocen význam vakcíny, která se skládá z rekombinantního proteinu **MAGE-A3** (*melanomaspecific antigen A3*) a imunostimulačního adjuvans u pacientů po radikální resekci NSCLC stadia IB, II a IIIA (s nebo bez léčby adjuvantní chemoterapií), kteří měli nádor vykazující expresi MAGE-A3. Pacienti byli randomizováni v poměru 2:1 (vakcína:placebo). Studie nesplnila primární cíl, kterým bylo přežití bez recidivy (DFS) (60,5 vs. 57,9 měsíce, $p=0,74$) [128]. Studie **START** hodnotila význam lipoproteinové vakcíny **tecemotide**, která indukuje imunitní odpověď na nádorové buňky exprimující MUC1 (*mucinous glycoprotein-1*) antigen u pacientů s neresekabilním NSCLC stadia III, po konkomitantní či sekvenční chemoradioterapii. Studie neprokázala signifikantní zlepšení OS v celkové populaci (25,6 vs. 22,3 měsíce, $p=0,123$), ale v podskupině pacientů léčených konkomitantní chemoradioterapií byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl v OS (30,8 vs. 20,6 měsíce, $p=0,016$) [129]. Ve studii **STOP** byl zkoumán význam podání vakcíny **belagenpumatucel-L** u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC (III/IV), kteří neprogrezovali

během prvoliniové chemoterapie založené na platinovém dubletu. Výsledky studie neprokázaly významné prodloužení OS (20,3 vs. 17,8 měsíce, $p=0,594$) ani PFS (4,3 vs. 4,0 měsíce, $p=0,947$) [130].

Buněčná imunoterapie

Základní princip metod označovaných jako buněčná imunoterapie je založen na aplikaci *ex vivo* aktivovaných a pomnožených tumor-specifických imunokompetentních buněk. Takto mohou být využívány dendritické buňky, NK buňky nebo LAK (*lymphokine-activated killer*) buňky. Například léčba pomocí dendritických buněk, spočívá v *ex vivo* kultivaci monocytů získaných leukaferézou, ze kterých se pak *in vitro* v laboratoři kultivují nezralé dendritické buňky vlivem cytokinů a různých růstových faktorů. Dále jsou dendritické buňky *in vitro* exponovány nádorovým antigenům (definované peptidy, mRNA, apoptotické nádorové buňky nebo lyzáty). Po pohlcení nádorových antigenů jsou následně dendritické buňky aktivovány, maturovány, a poté jako protinádorová vakcína podány zpět pacientovi [60, 120, 121, 131]. Metody buněčné imunoterapie představují nepochybně vysoce perspektivní možnost onkologické léčby a za tímto účelem jsou zkoumány. V současné době probíhá řada klinických studií zaměřených na možnosti buněčné imunoterapie. Zajímavých výsledků bylo dosaženo například v léčbě karcinomu prostaty [132]. V léčbě pacientů s NSCLC se tato léčba zatím významným způsobem neuplatňuje.



Obrázek 44 – Možnosti využití mechanismů protinádorové imunity k imunoterapii na různých úrovních

A) Schéma interakce buněk prezentujících antigen (DC), cytotoxických lymfocytů a nádorové buňky. Vazbou imunoregulačních molekul na příslušné receptory, např. B7/CTLA-4 nebo PD-1/PD-L1,2, dojde k inhibici T-buněčných funkcí a inhibici kostimulace. **B)** Eliminace regulačních T-lymfocytů. **C)** Imunoterapie pomocí dendritických buněk. **D)** Adoptivní buněčný přenos pomocí T-lymfocytů. **E)** Blokáda inhibičního receptoru CTLA-4 na povrchu T-lymfocytů pomocí monoklonálních protilátek. **F)** Působení monoklonálních protilátek blokujících imunosupresivní molekulu PD-1 CTL – cytotoxický T-lymfocyt; CTLA-4 – antigen asociovaný s cytotoxickými T-lymfocyty; DC – dendritická buňka; NB – nádorová buňka; PD-1/PD-L1–inhibiční receptor (membránový protein programované buněčné smrti) a jeho ligand; Treg – regulační T-lymfocyt.

Převzato a upraveno podle: BARTUŇKOVÁ, J., et al., 2015 [120].

Preparáty imunoterapie užívané u NSCLC

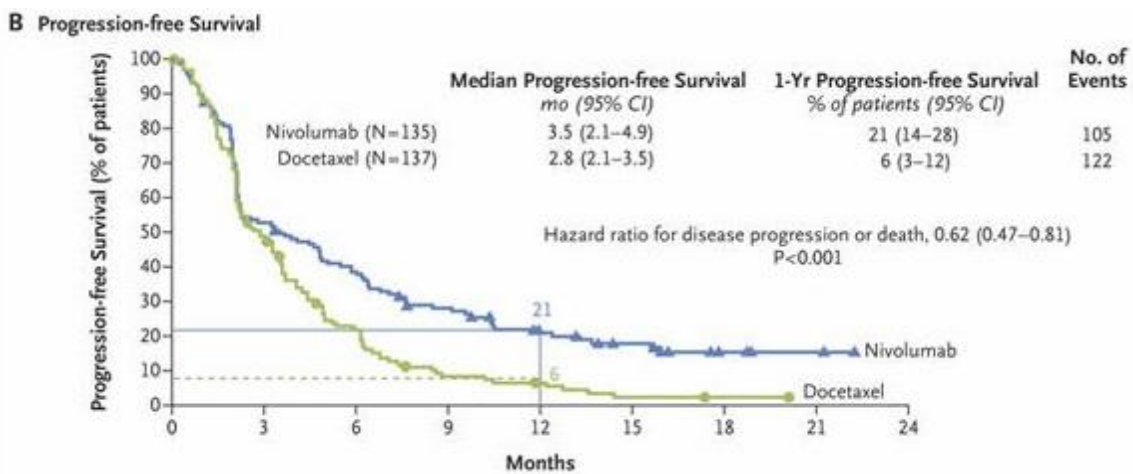
Nivolumab

Nivolumab je plně humanizovaná monoklonální protilátka cílená na PD-1 receptor. Jeho protinádorový efekt spočívá v blokadě imunosupresivního efektu nádorových buněk na tumor-specifické T-lymfocyty. Důsledkem toho je zesílení a obnovení protinádorové imunitní reakce [133]. Efektivita a bezpečnost nivolumabu ve druhé linii u pacientů s metastatickým NSCLC byly recentně zkoumány ve dvou randomizovaných klinických studiích fáze III, CheckMate 017 u pacientů se skvamózním histologickým typem a CheckMate 057 u pacientů s neskvamózním histologickým typem. V první linii byl nivolumab zkoumán ve studii fáze III, CheckMate 026. Při analýze významu exprese PD-L1, jako potenciálního biomarkeru účinnosti této terapie, byla prokázána větší účinnost u nádorů s vyšší expresí PD-L1. Při analýze významu exprese PD-L1, jako potenciálního biomarkeru účinnosti této terapie u NSCLC, byla prokázána větší účinnost u nádorů s vyšší expresí PD-L1. Prediktivní význam exprese PD-L1 je však zřejmě závislý na histologickém typu, u nivolumabu byl prokázán u

pacientů s nádory neskvamózního typu NSCLC. Navíc je zde stále otazná optimální metodika stanovení a hodnota cut-off.

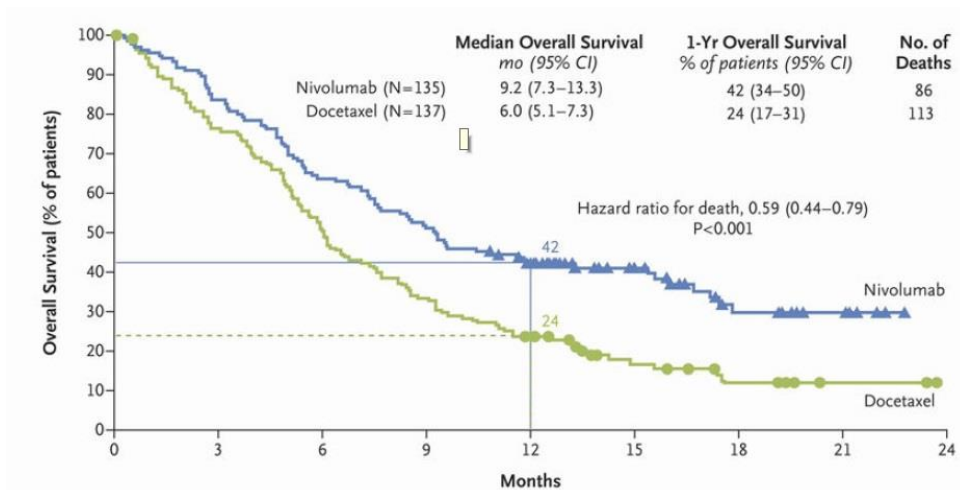
Ve studii **CheckMate 017** byl nivolumab srovnáván s docetaxelem v léčbě druhé linie u pacientů se skvamózním typem NSCLC metastatického stadia. Primárním cílem sledování bylo OS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení OS (9,2 vs. 6,0 měsíce, $p < 0,001$) i PFS (3,5 vs. 2,8 měsíce, $p < 0,001$) u pacientů léčených nivolumabem oproti pacientům, kteří byli léčeni docetaxelem (**Obrázky 45, 46**). Zajímavým zjištěním bylo, že studie nepotvrdila prognostický ani prediktivní význam exprese PD-L1 v nádorové tkáni. Bezpečnostní profil nivolumabu byl lepší než u docetaxelu. Nejčastěji popisované nežádoucí účinky nivolumabu byly: únava (16%), snížení chuti k jídlu (11%) a astenie (10%) [134].

Ve studii **CheckMate 057** byl nivolumab srovnáván s docetaxelem v léčbě pacientů s neskvamózním typem NSCLC metastatického stadia po selhání platinového dubletu první linie. Primárním cílem sledování bylo opět OS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení OS (12,2 vs. 9,4 měsíce, $p = 0,002$) u pacientů léčených nivolumabem oproti pacientům, kteří byli léčeni docetaxelem, ale nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl v PFS (2,3 vs. 4,2 měsíce, $p = 0,39$) (**Obrázky 47, 48**). Ve studii byl prokázán prediktivní význam exprese PD-L1 v nádorové tkáni. U pacientů s expresí PD-L1 v nádorové tkáni byl efekt léčby nivolumabem vyšší. Bezpečnostní profil nivolumabu byl příznivý, podobně jako ve studii CheckMate 017 [135].



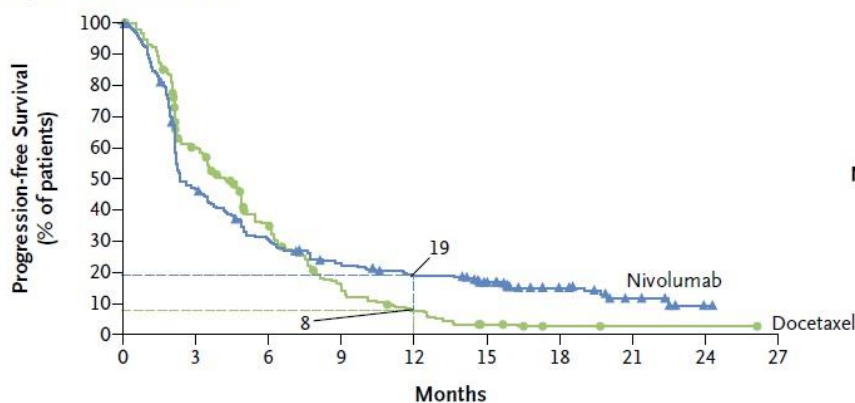
Obrázek 45 – Srovnání PFS pacientů ve studii CheckMate 017

Převzato a upraveno podle: BRAHMER, J., et al., 2015 [134].



Obrázek 46 – Srovnání OS pacientů ve studii CheckMate 017
Převzato a upraveno podle: BRAHMER, J., et al., 2015 [134].

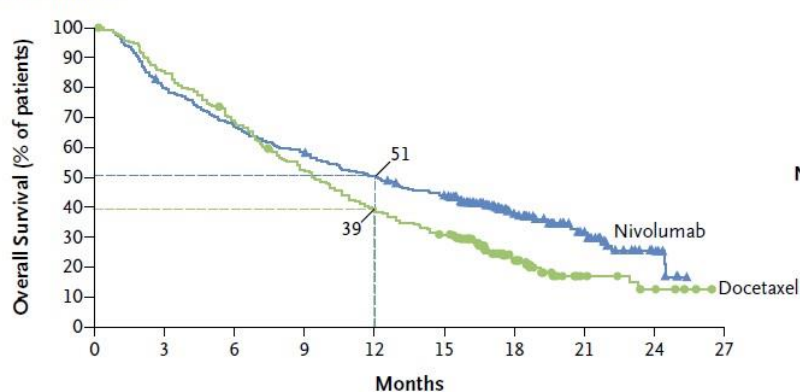
C Progression-free Survival



Hazard ratio for disease progression or death, 0.92 (95% CI, 0.77–1.11); P=0.39

Obrázek 47 – Srovnání PFS pacientů ve studii CheckMate 057
Převzato a upraveno podle: BORGHAEI, H., et al., 2015 [135].

A Overall Survival



Hazard ratio for death, 0.73 (96% CI, 0.59–0.89)
P=0.002

Obrázek 48 – Srovnání OS pacientů ve studii CheckMate 057
Převzato a upraveno podle: BORGHAEI, H., et al., 2015 [135].

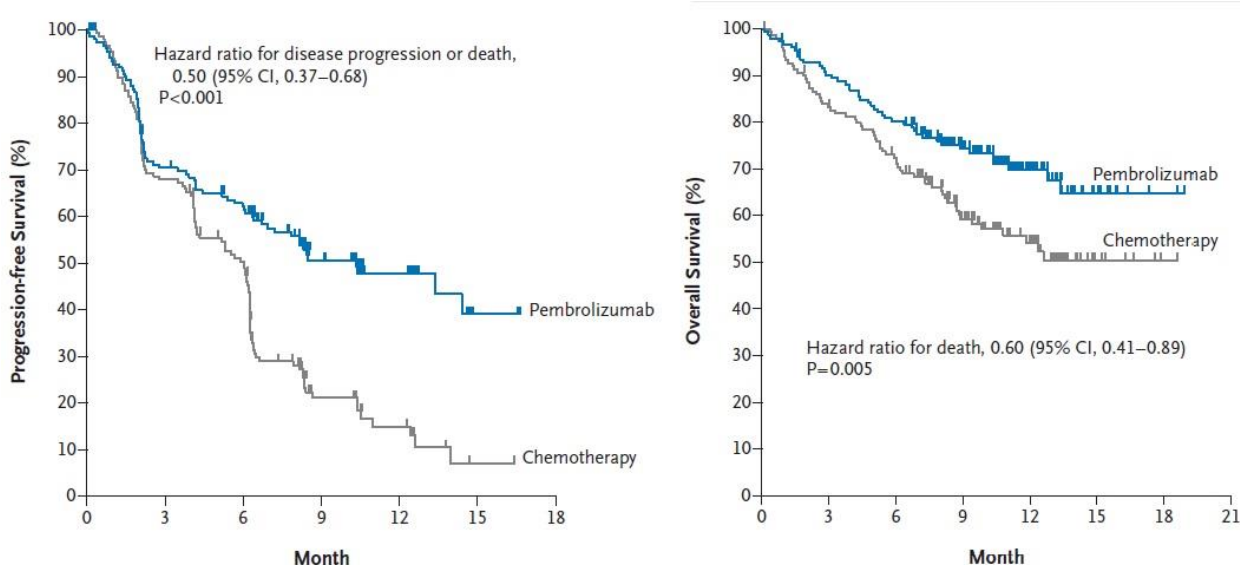
Ve studii **CheckMate 026**, byl nivolumab v léčbě první linie srovnáván s chemoterapií založenou na platinovém dubletu (dle volby investigátora) u pacientů s metastatickým NSCLC. Do studie byli vybíráni pacienti s nádory s prokázanou expresí PD-L1 ($\geq 1\%$). Primárním cílem sledování bylo PFS u pacientů s nádory s expresí PD-L1 $\geq 5\%$. U této sledované skupiny 423 pacientů studie neprokázala superioritu nivolumabu, co se týče PFS (4,2 vs. 5,9 měsíce, $p=0,251$) ani OS (14,4 vs. 13,2 měsíce, HR: 1,02), ale prokázala příznivější profil toxicity nivolumabu (nežádoucí účinky stupně 3/4: 17,6% vs. 50,6%) [136].

Pembrolizumab

Pembrolizumab je humanizovaná monoklonální protilátka cílená na PD-1 receptor. Princip jeho protinádorového efektu je tudíž obdobný jako u nivolumabu. Efektivita a bezpečnost pembrolizumabu v první i druhé linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC byly zkoumány v několika randomizovaných klinických studiích fáze III. Pembrolizumab prokázal ve studii KEYNOTE-010 vyšší efektivitu oproti docetaxelu ve druhé linii u pacientů s nádory exprimujícími PD-L1 [137]. Recentně pembrolizumab prokázal efektivitu v první linii léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou expresí PD-L1 v randomizované klinické studii fáze III, KEYNOTE-024 [138]. Na základě toho byl pembrolizumab schválen k užití pro první linii léčby takto definovaných pacientů.

Ve studii **KEYNOTE-010**, byl pembrolizumab hodnocen v léčbě druhé linie u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou expresí ($\geq 1\%$) PD-L1. Pacienti byli rozděleni do tří ramen, k léčbě pembrolizumabem v dávce 2 mg/kg (q3w), v dávce 10 mg/kg (q3w) a docetaxelem (75 mg/m², q3w). Primárním cílem bylo PFS a OS hodnocené v celkové populaci a v podskupině pacientů s nádory s expresí PD-L1 $\geq 50\%$. Studie prokázala signifikantní prodloužení OS u pacientů léčených pembrolizumabem, delšího přežití ve srovnání s docetaxelem bylo dosaženo ve skupině léčené dávkou 2 mg/kg (10,4 vs. 8,5 měsíce, $p=0,0008$) i dávkou 10 mg/kg (12,7 vs. 8,5 měsíce, $p<0,0001$). V PFS nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi pembrolizumabem v nižší nebo vyšší dávce a docetaxelem (3,9 vs. 4,0 vs. 4,0 měsíce, $p=0,07$ a $p=0,004$). V podskupině pacientů s nádory s expresí PD-L1 $\geq 50\%$ bylo prokázáno signifikantně delší OS u pacientů léčených pembrolizumabem v nižší i vyšší dávce oproti kontrolní skupině (14,9 vs. 17,3 vs. 8,2 měsíce, $p=0,0002$ a $p<0,0001$), rovněž zde bylo prokázáno signifikantně delší PFS u pacientů léčených pembrolizumabem nižší i vyšší dávkou oproti kontrolní skupině (5,0 vs. 5,2 vs. 4,1 měsíce, $p=0,0001$ a $p<0,0001$). Pembrolizumab zde prokázal i příznivější profil toxicity, a to jak v nižší, tak vyšší dávce, ve srovnání s docetaxelem (projevy toxicity stupně 3-5: 13% vs. 16% vs. 35%) [137].

Ve studii **KEYNOTE-024** byl pembrolizumab srovnáván se standardním platinovým dubletem v léčbě první linie u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s imunohistochemicky prokázanou expresí PD-L1 ($\geq 50\%$), bez aktivační mutace EGFR nebo ALK translokace. Primárním cílem sledování bylo PFS. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení PFS (10,3 vs. 6,0 měsíce, $p<0,001$) i OS ($p=0,005$) u pacientů léčených pembrolizumabem oproti pacientům, kteří byli léčeni standardním platinovým dubletem (**Obrázek 49**). Bezpečnostní profil pembrolizumabu byl lepší než u platinového dubletu [138].



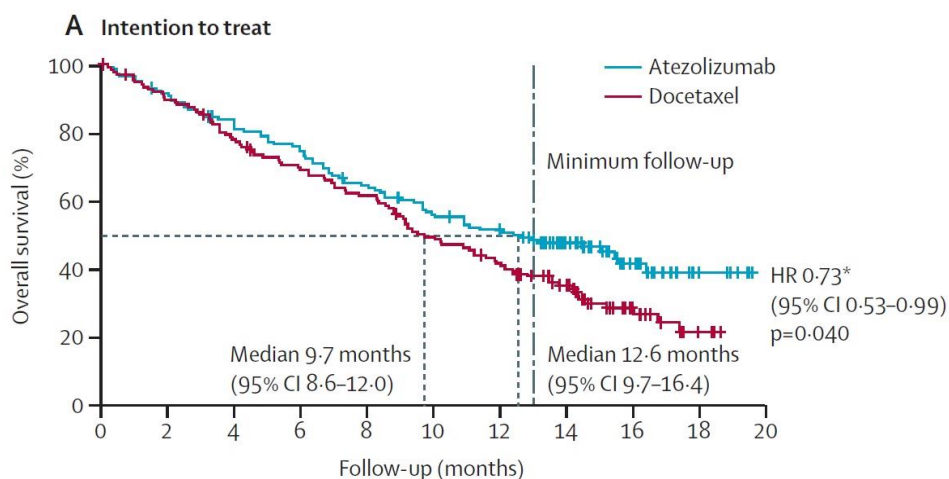
Obrázek 49 – Srovnání přežití pacientů ve studii KEYNOTE-024

Převzato a upraveno podle: RECK, M., et al., 2016 [138].

Atezolizumab

Atezolizumab je plně humanizovaná monoklonální protilátka cílená na PD-L1. Principem jeho protinádorového efektu je blokáda aktivace PD-1 imunitního *check-pointu* cestou inaktivace ligandu tohoto receptoru (PD-L1). Vysoká aktivita atezolizumabu byla pozorována zejména u nádorů s vysokou expresí PD-L1 a/nebo přítomností TIL. Atezolizumab prokázal příznivé výsledky v léčbě pacientů s pokročilým NSCLC po selhání prvoliniové chemoterapie v klinické studii fáze II, POPLAR, které byly dále potvrzeny výsledky studie fáze III, OAK [139, 140]. V současné době probíhá několik klinických studií fáze III, které hodnotí význam atezolizumabu v první linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC. Atezolizumab se tedy jeví jako další preparát, potenciálně využitelný, pro druholiniovou léčbu pokročilého NSCLC.

Otevřená randomizovaná klinická studie fáze II, **POPLAR**, zkoumala efektivitu a bezpečnost atezolizumabu u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC po selhání chemoterapie založené na platinovém dubletu. Hodnocena byla neselektovaná populace pacientů, tedy byli zařazováni i pacienti s nádory neexprimujícími PD-L1. Atezolizumab byl porovnáván s docetaxelem. Primárním cílem sledování bylo OS. Ve studii bylo dosaženo signifikantní prodloužení OS (12,6 vs. 9,7 měsíce, $p=0,04$) u pacientů léčených atezolizumabem oproti pacientům léčeným docetaxelem (**Obrázek 50**). Míra prodloužení přežití významně korelovala s mírou exprese PD-L1, která i zde tedy představuje významný prediktivní biomarker. Atezolizumab prokázal příznivý bezpečnostní profil [139].



Obrázek 50 – Srovnání OS pacientů ve studii POPLAR

Převzato a upraveno podle: FEHRENBACHER, L., et al., 2016 [139].

Ve studii **OAK** byl atezolizumab srovnáván s docetaxelem (75 mg/m², q3w) u pacientů s pokročilým stadiem (IIIB/IV) NSCLC po selhání jedné až dvou linií chemoterapie. Byli zařazováni pacienti bez ohledu na expresi PD-L1 v nádoru. Hlavním cílem bylo prodloužení OS. Výsledky studie prokázaly signifikantní prodloužení OS v celkové léčené populaci (13,8 vs. 9,6 měsíce, p=0,0003). Byl potvrzen prediktivní význam exprese PD-L1, kdy největšího benefitu z léčby atezolizumabem dosáhli pacienti s nádory s nejvyšší expesí PD-L1 (OS: 20,5 vs. 8,9 měsíce, HR: 0,41), na druhou stranu z léčby atezolizumabem profitovali i pacienti s nádory s nízkou nebo nedetekovanou expesí PD-L1 (OS: 12,6 vs. 8,9 měsíce, HR: 0,75). Prodloužení OS v rameni s atezolizumabem bylo srovnatelné u nádorů skvamozního i neskvamozního histologického typu (obojí: HR: 0,73). Výsledky studie neprokázaly signifikantní rozdíl v PFS v celkové populaci mezi oběma skupinami (2,8 vs. 4,0 měsíce, HR: 0,95, p=0,49), výsledků, které favorizují atezolizumab, bylo dosaženo pouze v podskupině pacientů s nádory s vysokou expesí PD-L1 (HR: 0,63) [140].

Paliativní systémová onkologická léčba pacientů s pokročilým NSCLC v současné klinické praxi

Systémová onkologická léčba pacientů s pokročilým NSCLC je stratifikována do několika linií. Léčebná odpověď je sledována pravidelnými kontrolami skiagramu před podáním následujícího cyklu a po 2–3 cyklech je doporučeno kontrolní CT, eventuelně kompletní přestážování onemocnění [40, 41]. K hodnocení objektivní léčebné odpovědi pomocí zobrazovacích metod jsou užívána jednoznačně definovaná RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumours*) kritéria. Hodnocení RECIST je založeno na anatomickém určení celkové velikosti měřitelné nádorové masy (tzv. měřitelné léze) [139]. Jiná kritéria, jako například hladiny sérových onkomarkerů, pro sledování velikosti nádorové masy dosud stanovena nebyla a nejsou pro léčebný postup směrodatná. Nástup imunoterapie a její specifické účinky, zejména tzv. pseudoprogrese a často opožděný nástup léčebné odpovědi, přinesl potřebu zavedení specifických kritérií k hodnocení objektivní léčebné odpovědi, které se označují jako irRC (*immune-related Response Criteria*) [125]. Kritéria pro hodnocení objektivní léčebné odpovědi RECIST a irRC jsou uvedena v **Tabulce 4**. Při zjištění progrese onemocnění, výskytu závažných nežádoucích účinků nebo intoleranci léčby je první linie léčby ukončena, a pokud nejsou kontraindikace další léčby, přechází se k linii druhé. Obdobně se pak postupuje v druhé a dalších liniích [40, 41].

Tabulka 4 - Hodnocení objektivní léčebné odpovědi podle RECIST a irRC kritérií [125, 141].

RECIST kritéria

Kompletní remise (odpověď) - CR	Kompletní vymizení nádorové masy (100%)
Parciální remise (odpověď) – PR	Minimálně 30% zmenšení nádorové masy ve srovnání s úvodním měřením
Progrese – PD	Minimálně 20% nárůst nádorové masy ve srovnání s úvodním měřením nebo objevení nových lézí
Stabilizace onemocnění - SD	Nesplnění kritérií pro PD, PR ani CR

irRC kritéria

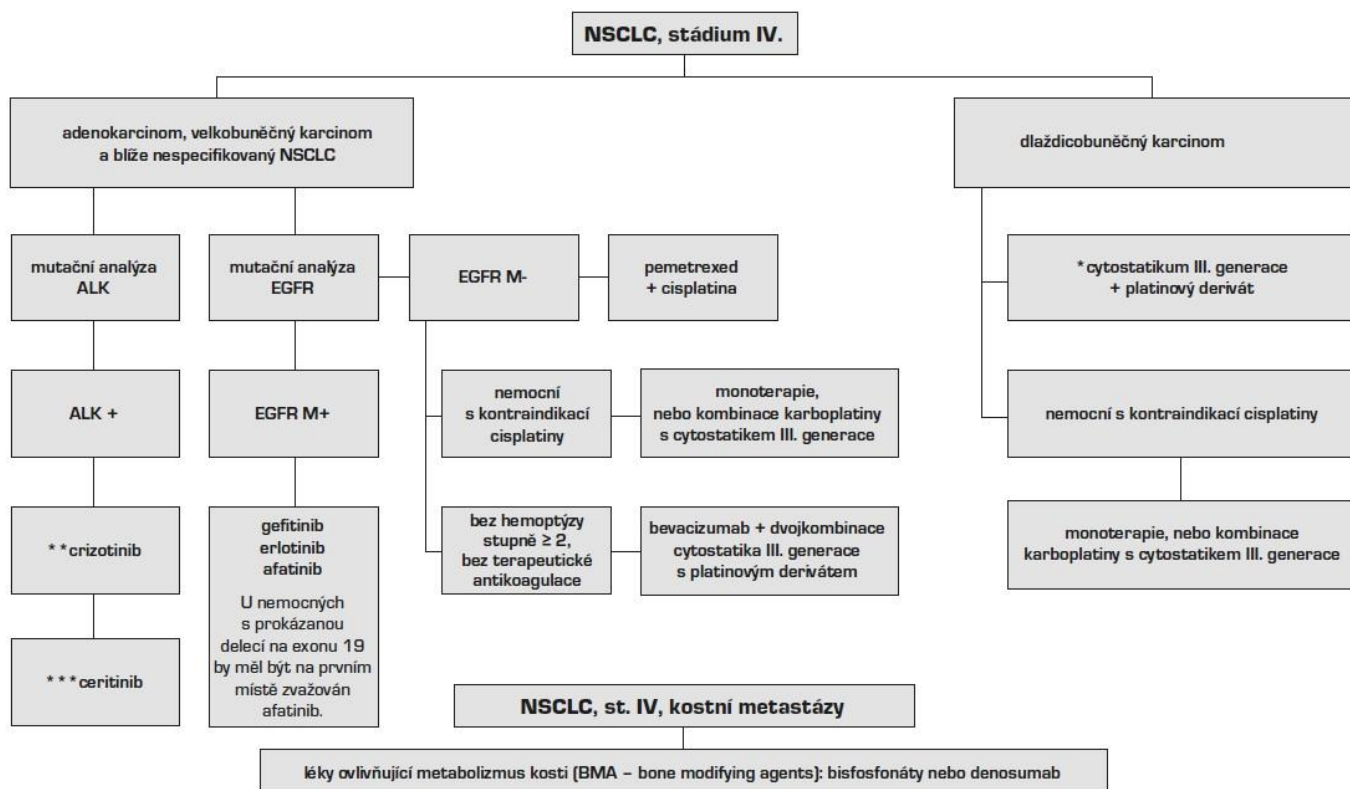
Kompletní remise (odpověď) - irCR	Kompletní vymizení nádorové masy (100%)
Parciální remise (odpověď) - irPR	Minimálně 50% zmenšení nádorové masy ve srovnání s úvodním měřením. Nové léze jsou možné. Potvrzení nejméně 4 týdny po zjištění irPR.
Progrese – irPD	Minimálně 20% nárůst nádorové masy ve srovnání s úvodním měřením nebo objevení se jedné či více nových lézí
Stabilizace onemocnění - irSD	Nesplnění kritérií pro irPD, irPR ani irCR

Léčba první linie

Pro volbu optimální prvoliniové léčby má v současné době zásadní význam určení histologického typu NSCLC (minimálně rozdělení na skvamózní a neskvamózní typ) a molekulárně-genetické testování významných prediktivních biomarkerů, kam patří zejména aktivační mutace genu EGFR, translokace ALK, a exprese PD-L1. Dále je samozřejmě nezbytné důsledně posoudit stav výkonnosti pacienta, významné komorbidity, stav renálních, jaterních funkcí atd., jak již bylo zmíněno v předchozím textu. U pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR je v první linii užívána cílená léčba v podobě EGFR-TKI, které představují gefitinib, erlotinib a afatinib. U pacientů, s nádory s *wild-type* EGFR genem nebo u nichž nebylo genetické vyšetření provedeno, je v první linii standardně užívána chemoterapie, jejíž volba se odvíjí od přesné histopatologické diagnózy. Pro léčbu pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC je v první linii užíván pemetrexed, v kombinaci s platinovým derivátem nebo kombinace paklitaxel nebo gemcitabin s platinovým derivátem a bevacizumabem. Pro prvoliniovou léčbu pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC s expresí EGFR je možné použít kombinaci necitumumabu a chemoetrapie cisplatina/gemcitabin, jinak lze použít dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace (paklitaxel, docetaxel, gemcitabin, vinorelbin), tyto kombinace je možné užít i u pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC. Nejnověji lze v léčbě první linie použít pembrolizumab u nádorů s prokázanou vysokou expresí PD-L1 ($\geq 50\%$), bez aktivační mutace EGFR nebo ALK translokace. Obecně vzato, standardně se v první linii používá 4–6 cyklů chemoterapie, pokud během léčby nedojde k progresi nálezů. Pemetrexed je možné užít v režimu udržovací léčby, jak bylo popsáno v předchozím textu. V případě kombinace chemoterapie a cílené léčby je po 6 cyklech pokračováno v monoterapii cíleným lékem až do zjištění progresu onemocnění [40, 41]. Souhrn prvoliniových léčebných schémat je uveden v **Tabulce 5**.

Tabulka 5 - Kombinace pro léčbu první linie u NSCLC

Paliativní systémová léčba NSCLC – nejčastěji užívané kombinace pro léčbu první linie
Karboplatina + paklitaxel
Cisplatina + paklitaxel
Karboplatina + docetaxel
Cisplatina + docetaxel
Cisplatina + vinorelbin
Karboplatina + vinorelbin
Karboplatina + gemcitabin
Cisplatina + gemcitabin
Cisplatina + pemetrexed (neskvamózní histologický typ NSCLC)
Karboplatina + paklitaxel + bevacizumab (neskvamózní histologický typ NSCLC)
Cisplatina + gemcitabin + bevacizumab (neskvamózní histologický typ NSCLC)
Cisplatina + gemcitabin + necitumumab (skvamózní histologický typ NSCLC)
Pembrolizumab



* Kromě pemetrexedu, který je registrován pro léčbu 1. linie NSCLC jiného histologického typu, než predominantně z dlaždicových buněk pouze v kombinaci s cisplatinou.

** Podání crizotinibu je možné až po selhání chemoterapie.

*** Podání ceritinibu je možné po selhání crizotinibu; o úhradě ceritinibu z prostředků veřejného zdravotního pojištění nebylo k 1. 3. 2016 rozhodnuto.

Obrázek 51 – Algoritmus volby systémové onkologické léčby první linie u pacientů s pokročilým NSCLC dle stávajících doporučení ČOS

Převzato a upraveno podle: VYZULA, R., et al., 2017 [41].

Léčba druhé linie

Ve druhé linii jsou standardně užívány různé modality systémové onkologické léčby, tedy chemoterapie, cílená léčba a nejnověji též imunoterapie. Při volbě léčby je třeba v první řadě zohlednit stav pacienta včetně ECOG PS a orgánových funkcí, histologický typ NSCLC, výsledek molekulárně-genetického vyšetření i předchozí léčbu.

V případě volby chemoterapie je možné užít docetaxel nebo pemetrexed v monoterapii. Pemetrexed je vhodný pouze pro léčbu pacientů s NSCLC neskvamózního histologického typu (pokud nebyl užit v první linii). Docetaxel je vhodný pro léčbu skvamózního i neskvamózního histologického typu NSCLC. Dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace nebo pemetrexedem, eventuálně kombinace chemoterapie s bevacizumabem (u neskvamózního histologického typu NSCLC) je možno ve druhé linii užít u pacientů, kteří byli v první linii léčeni EGFR-TKI, případně imunoterapií.

V případě volby cílené léčby je možné užít několik preparátů. U pacientů s prokázanou přestavbou genu ALK, nejčastěji v podobě translokace EML4-ALK, je vysoce efektivní použití crizotinibu. V případě pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR, kteří nebyli v první linii léčeni EGFR-TKI, je vhodné užití tohoto preparátu v linii druhé. U

pacientů s adenokarcinomem je možné v kombinaci s docetaxelem užít nintedanib. U pacientů s aktivační mutací EGFR je po selhání prvoliniové léčby EGFR-TKI možné užít osimertinib, pokud je prokázaným mechanismem rezistence přítomnost EGFR mutace T790M.

V případě volby imunoterapie je ve druhé linii možné využít nivolumab nebo pembrolizumab [40, 41].

Léčba třetí linie a v dalších liniích

Ve třetí linii jsou možnosti léčby již poměrně značně limitované, co se týče výběru preparátu i celkového stavu předléčeného pacienta. Je zde možné využít EGFR-TKI (erlotinib), který je doporučen ve třetí linii u pacientů, kteří jej neměli v linii druhé nebo první. U pacientů s ALK translokací je možné po selhání crizotinibu použít ALK inhibitory další generace (ceritinib, alectinib). U pacientů, kteří měli dobrou odpověď na chemoterapii, léčbu dobře tolerovali a jsou v dobrém stavu výkonnosti, je možné zvážit další podání chemoterapie (v monoterapii), přestože to není zcela standardní léčebný postup. Pro léčbu ve čtvrté a v dalších liniích není k dispozici žádný lék se specificky schválenou indikací. Pokud je to možné a vhodné, nabízí se účast pacienta v klinických studiích [40, 41].

Personalizovaná onkologická léčba a biomarkery

Moderní onkologii zásadním způsobem ovlivňuje model personalizované léčby, která je založena na individualizaci léčebného přístupu k pacientovi. Pro volbu optimální léčby konkrétního pacienta je nutná znalost nejen histologického typu nádoru a klinického stadia onemocnění, ale rovněž znalost molekulárně-genetického profilu nádoru. Samozřejmostí je pochopitelně celkový stav pacienta včetně adekvátních orgánových funkcí a v neposlední řadě zohlednění náhledu a preferencí nemocného. Molekulárně-genetický profil nádorových onemocnění je v současné době cílem intenzivního výzkumu právě pro svůj významný dopad na terapeutické rozhodování, ale i na hledání nových potenciálních cílů systémové onkologické léčby. U NSCLC bylo odhaleno poměrně široké spektrum onkogenních genetických alterací, jako jsou mutace, amplifikace nebo translokace. Jejich výskyt bývá často do jisté míry charakteristický pro specifické skupiny pacientů. Odlišné genetické alterace tak nacházíme například u kuřáků a nekuřáků, asiátů a bělochů, žen a mužů nebo u adenokarcinomů a skvamózních karcinomů [142-150]. V posledních letech tak bylo na molekulárně-genetické úrovni identifikováno velké množství biomarkerů, které je možné využít k odhadu prognózy pacienta nebo pro predikci efektu nebo toxicity systémové léčby. Mezi biomarkery takto můžeme rozlišit faktory prognostické a faktory prediktivní. Tyto termíny jsou někdy nesprávně zaměňovány. **Prognostické faktory** reflektují obecněji biologické chování nádoru a jejich užitím je možné předpovědět průběh onemocnění a celkovou prognózu pacienta, bez ohledu na volbu specifického terapeutického postupu. **Prediktivní faktory** reflektují specifické biologické chování nádoru v souvislosti s konkrétním typem léčby a jejich užitím je možné předpovědět efekt specifické terapie nebo předpovědět riziko vzniku nežádoucích účinků daného léčebného postupu. Výzkumem řady potenciálních prediktivních biomarkerů, zejména v oblasti cílené léčby a imunoterapie, se v současné době zabývá velké množství vědeckých týmů na celém světě. Pro ověření prediktivního významu biomarkeru a zhodnocení možností jeho využití v běžné klinické praxi je nutné provedení rozsáhlých klinických studií. Prediktivní biomarker, který má být užíván v rutinní klinické praxi musí být dostatečně senzitivní, specifický. Důležitá je rovněž technická proveditelnost a cena takového vyšetření. Těmto požadavkům ve finále vyhovuje pouze velmi malá část biomarkerů, které jsou za tímto účelem zkoumány. Využití dosud známých a rovněž hledání nových potenciálních prediktivních biomarkerů, zejména na molekulárně-genetické úrovni, má velmi důležitý význam pro aplikaci konceptu personalizované onkologické léčby v podmínkách běžné klinické praxe. Právě na základě identifikace prediktivních biomarkerů pak může probíhat volba konkrétní léčebné strategie, kdy je pacientovi podána taková léčba, u které je nejvyšší pravděpodobnost, že z ní bude dobře profitovat [151-155]. Koncept personalizované onkologické léčby se etabloval i v léčbě pacientů s pokročilým NSCLC a díky tomu zde v posledních letech dochází k významnému pokroku [156-158].

Prediktivní faktory pro EGFR-TKI

Mutace genu EGFR

Aktivační mutace genu EGFR vedou ke změnám struktury molekuly transmembránového receptoru většinou v oblasti jeho tyrozinkinázové domény. V důsledku těchto strukturálních a funkčních změn dochází k permanentní aktivaci EGFR signálních drah a receptory těchto nádorových buněk tak ztrácejí svojí závislost na ligandu [159, 160]. Aktivační mutace genu EGFR představují významný onkogenní driver u NSCLC. Drtivou většinu (cca 90%) těchto mutací představují dva typy, delece na exonu 19 a bodová mutace na exonu 21 (L858R). Tyto mutace bývají také někdy označovány jako tzv. *klasické*. Jiné aktivační mutace se nacházejí na exonech 18 a 20, jsou poměrně vzácné a jejich prediktivní význam v řadě případů není zcela jednoznačný [161, 162]. Aktivační mutace genu EGFR jsou nalézány cca u 10-30% pacientů s NSCLC. Bylo prokázáno, že tyto mutace jsou častěji nalézány u některých specifických skupin pacientů, kterými jsou Asiaté, nekuřáci, ženy a pacienti s adenokarcinomem. V kavkazské populaci jsou aktivační mutace genu EGFR nalézány u cca 10-15% pacientů [163-166].

Význam aktivačních mutací genu EGFR jako prediktoru dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI, byl poprvé popsán autory Lynchem a Paezem v roce 2004 [167, 168] a následně byl potvrzen řadou dalších prací, včetně rozsáhlých randomizovaných klinických studií [94, 169-177]. Velmi dobré zkušenosti s léčbou EGFR-TKI u pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR přirozeně vedly k myšlence užití EGFR-TKI v první linii léčby u takto geneticky selektované populace pacientů s pokročilým NSCLC. Výsledky randomizovaných klinických studií fáze III, kde byl srovnáván efekt léčby EGFR-TKI oproti standardně užívaným cytostatickým režimům v první linii léčby pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR, prokázaly signifikantně lepší efekt EGFR-TKI [91, 92, 96, 98-100]. Výsledky těchto studií vedly ke změně doporučení prvoliniové léčby. V současné době tak představují aktivační mutace genu EGFR významný prediktor efektu léčby EGFR-TKI, který je využíván v podmínkách běžné klinické praxe pro výběr systémové léčby první linie u pacientů s pokročilým NSCLC, kdy u těchto pacientů je indikována léčba EGFR-TKI [40, 41]. Kromě klasických aktivačních mutací genu EGFR, které představují relativně spolehlivý prediktor dobrého efektu léčby EGFR-TKI, byly nalezeny i mutace, které predikují rezistenci k této léčbě. Nejčastější typ rezistentní mutace tyrozinkinázové domény EGFR je označován jako T790M, nachází se na exonu 20 a většinou vznikají sekundárně. Tyto mutace jsou většinou zodpovědné za získanou rezistenci na léčbu EGFR-TKI první generace [178-181]. Pohled na význam rezistentních mutací T790M se v poslední době částečně změnil nástupem EGFR-TKI druhé a zejména třetí generace, kde osimertinib představuje inhibitor blokuující aktivitu EGFR receptoru s mutací T790M i s klasickými typy aktivační mutace [102]. Mezi další, méně časté, rezistentní EGFR mutace lokalizované na 20. exonu patří například D761Y a L747S. Dále bylo popsáno několik typů mutace extracelulární domény EGFR (varianta I-VII) na exonech 2-7, z nichž nejčastějším typem je varianta III (EGFRvIII). Hlavním funkčním důsledkem těchto mutací je úplné chybění extracelulární domény receptoru, na který se tak nemůže navázat jeho ligand, dále jsou zde předpokládány i změny na

intracelulární doméně receptoru. Schopnost dimerizace receptoru zůstává zachována i bez vazby ligandu a dochází k jeho permanentní aktivaci nezávislé na přítomnosti přirozeného ligandu [182-184]. Význam těchto mutací pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u pacientů s NSCLC zatím nebyl jednoznačně objasněn. Byla publikována experimentální studie, která ukázala, že tyto mutace vedou k rezistenci na léčbu reverzibilními EGFR-TKI, oproti tomu senzitivita k léčbě ireverzibilními EGFR-TKI zůstala zachována [185]. Nomenklatura v české, ale ani světové, literatuře není zcela ustálená a pod výrazem aktivační EGFR mutace jsou většinou rozuměny TKI senzitivní mutace, byť to označení není zcela přesné. EGFR mutace vedoucí k rezistenci k TKI jsou pak označovány jako *rezistentní EGFR mutace*. V textu této práce je tedy pojem aktivační mutace genu EGFR rovněž užíván ve smyslu TKI senzitivní mutace.

Expresce genu EGFR

Zvýšená exprese genu EGFR je velmi často nalézána u nádorových buněk NSCLC (cca 40-80%) a většinou bývá spojována s agresivním chováním nádoru a nepříznivou prognózou těchto pacientů [175, 186, 187]. Význam overexpresce EGFR pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u NSCLC dosud nebyl jednoznačně objasněn, přesto že se jedná o biomarker, kterému byla zpočátku věnována velká pozornost. V minulosti byly publikovány práce, které ukazovaly význam overexpresce jako prediktoru dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI, na druhou stranu však byly publikovány práce, které tuto hypotézu nepotvrdily [174, 188-191].

Amplifikace genu EGFR

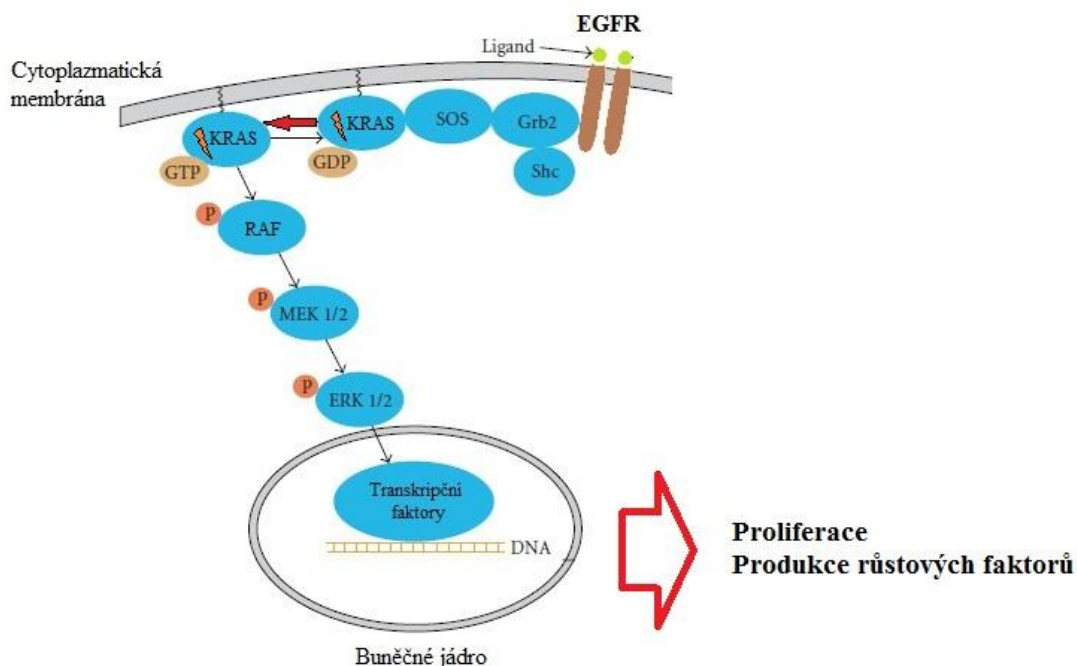
Amplifikace genu znamená zmnožení počtu genových kopií v buňce. Amplifikace genu je většinou spojena s overexpresí daného proteinu v buňce, jak bylo již zmíněno. Amplifikace genu EGFR bývají popisovány cca u 30% pacientů s NSCLC a představují negativní prognostický faktor [190]. Bylo prokázáno, že výskyt EGFR amplifikací je častý u pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR [188, 192-194]. Zmnožení počtu genu v chromozomu tak pravděpodobně ukazuje na klíčový význam exprimovaného proteinu v signální soustavě nádorové buňky. Názor na význam EGFR amplifikací pro predikci efektu léčby EGFR-TKI není zcela jednoznačný. Některé publikované práce popisují amplifikace genu EGFR jako potenciální prediktor dobrého efektu léčby EGFR-TKI [188, 189, 195, 196]. Na druhou stranu však nelze opominout fakt, že byly publikovány i práce, které prediktivní význam amplifikace genu EGFR nepotvrdily [188, 197]. Výsledky metaanalýzy, kterou publikovali Dahabreh a kol., ukazují, že jde o potenciální prediktor efektu léčby EGFR-TKI, který je však v porovnání s aktivačními mutacemi genu EGFR méně specifický a rovněž méně senzitivní [198].

Mutace genu KRAS

KRAS je onkoprotein, který se zásadním způsobem podílí na přenosu signálu v kaskádě spouštěné aktivací EGFR. Patří do rodiny onkoproteinů RAS, která má celkem tři členy KRAS (*Kirsten-RAS*), NRAS (*Neuroblastoma-RAS*) a HRAS (*Harvey-RAS*). KRAS je lokalizován na vnitřním povrchu cytoplazmatické membrány a má dvě formy, GDP-forma (GDP - guanosin difosfát) a GTP-forma (GTP – guanosin trifosfát), které se cyklicky mění

v závislosti na aktivaci EGFR. Při aktivaci EGFR dochází k fosforylaci cytoplazmatické tyrozinkinázové domény receptoru, následně dochází k fosforylaci KRAS, který přechází z GDP-formy na GTP-formu a podobným způsobem pak dochází k aktivaci dalších signálních přenašečů. Důležitou funkcí KRAS proteinu je jeho GTPázová aktivita. Díky GTPázové hydrolytické aktivitě má KRAS schopnost vlastní inaktivace [199, 200]. Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu ukazuje **Obrázek 52**.

Mutace genu KRAS představují významný onkogenní driver u různých maligních onemocnění [201]. Často se vyskytují u karcinomu pankreatu (>80%), kolorektálního karcinomu (40–50%), a NSCLC (15-25%), ale jsou popisovány i u řady dalších malignit jako například karcinom děložního těla, karcinom děložního čípku, cholangiocelulární karcinom, hepatocelulární karcinom, karcinom močového měchýře, myeloidní leukemie nebo karcinom prsu [201-203]. U NSCLC byla mutace KRAS poprvé popsána E. Santosem v roce 1984 [204]. Mutace genu KRAS vede ke strukturálním a funkčním změnám tohoto proteinu, jejichž důsledkem je zejména pokles GTPázové aktivity KRAS proteinu a tak dochází ke ztrátě jeho schopnosti vlastní inaktivace. Kontinuální aktivace KRAS vede k permanentní aktivaci signálních drah EGFR signální dráhy [200]. KRAS mutace se obvykle vyskytují na kodonech 12 a 13, vzácně na kodonech 61, 63, 117, 119, a 146 [205-207]. Výskyt KRAS mutací je relativně vysoký u bělochů, vyskytují se často u pacientů s adenokarcinomem (cca 22%) a zřídka u pacientů se skvamózním karcinomem (cca 1-5%) [208, 209]. Přítomnost KRAS mutace je u pacientů s NSCLC velmi často spojována s kouřením [210, 211].



Obrázek 46 - Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu

Převzato a upraveno podle: JANCÍK, S., et al., 2010 [200].

KRAS mutace jsou u zhoubných nádorů obecně považovány za negativní prognostický faktor a u kolorektálního karcinomu byl prokázán jejich význam pro predikci anti-EGFR cílené léčby cetuximabem, kdy pro tuto léčbu jsou vybíráni pouze pacienti, kteří jsou nositeli nemutovaného, wild-type KRAS genu [212-214]. Význam mutací genu KRAS pro predikci účinku EGFR-TKI u NSCLC dosud není zcela jasný. Bylo publikováno několik prací, které ukazují mutace KRAS jako negativní prediktor efektu léčby EGFR-TKI, ale na druhou stranu existuje řada prací, které toto tvrzení nepotvrdily, včetně velkých klinických studií fáze III jako byly například BR.21, ISEL, INTEREST nebo SATURN [173, 175-177, 180, 215, 216]. Velmi zajímavá a dosud málo studovaná je otázka významu typu mutace KRAS v predikci efektu léčby cílené proti EGFR. V minulosti byly publikovány experimentální práce, které demonstrovaly rozdílnou agresivitu nádorových buněk v souvislosti se specifickým typem mutace genu KRAS a v poslední době byly publikovány některé práce, které ukazují rozdílnou odpověď na chemoterapii nebo cílenou léčbu podle specifického typu KRAS mutace [217-221].

Amplifikace genu MET

MET je tyrozin kinázový receptor, jehož přirozeným ligandem je HGF. Aktivace MET spouští několik signálních drah, které významným způsobem ovlivňují růst, přežívání i metastazování nádorových buněk [222]. Amplifikace genu MET je u NSCLC spojena s rezistencí k léčbě EGFR-TKI [223]. Ve většině případů se jedná o rezistenci vzniklou sekundárně [224]. Po mutaci EGFR T790M jde o nejčastější mechanismus získané rezistence na EGFR-TKI. MET amplifikace u pacientů, kteří nebyli léčeni EGFR-TKI se vyskytují poměrně vzácně.

Expese a amplifikace genu HER2

HER2 (ErbB2) patří mezi transmembránové receptory rodiny HER. Je pozoruhodný tím, že nemá svůj přirozený ligand. Významnou roli sehrává zejména v procesu heterodimerizace při aktivaci EGFR, kde se uplatňuje jako koreceptor. Zvýšená expese HER2 u NSCLC bývá spojena s agresivním chováním nádoru a nepříznivou prognózou [225]. Expese ani amplifikace genu HER2 samy o sobě nepredikují efekt léčby EGFR-TKI, ale bylo prokázáno, že u pacientů s amplifikací genu EGFR, kteří měli současně prokázanou amplifikaci genu HER2 byla léčba EGFR-TKI významně efektivnější oproti pacientům bez amplifikace genu HER2 [226].

Alterace na úrovni signální dráhy PI3K/AKT

Fosfatidylinositol-3 kináza (PI3K)/AKT představuje jednu z klíčových signálních drah, které jsou spouštěny aktivací EGFR. Sehrává významnou roli zejména v regulaci apoptózy (zapojení PI3K/AKT signální dráhy schematicky ukazuje **Obrázek 13**). Bylo prokázáno, že aberantní aktivace této signální dráhy vede k rezistenci na EGFR-TKI. Tato aktivace může být způsobena různými mechanismy, jako jsou mutace nebo amplifikace genu alfa katalytické domény PIK3 (PIK3CA), nebo ztrátou expese tumor supresorového genu PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog*), který defosforylací blokuje aktivaci této signální dráhy. Prediktivní význam mutací a amplifikací genu PIK3CA u NSCLC je v současné době

studován, zatím bez dosažení jednoznačného konsenzu. Některé práce ukazují, že mutace PIK3CA vedou k rezistenci na EGFR-TKI [227]. Mutace genu PIK3CA a jejich prediktivní význam jsme studovali na selektované populaci pacientů se skvamózním karcinomem, mutace jsme prokázali u 3,8% pacientů, ale signifikantní rozdíl v efektu léčby EGFR-TKI jsme nezaznamenali [228]. Ztráta exprese genu PTEN je rovněž spojována s rezistencí k EGFR-TKI [229].

Prediktivní faktory pro ALK inhibitory

Translokace genu ALK

Gen ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) je lokalizován na chromozomu 2 (p23) a kóduje transmembránový protein ALK s tyrosinkinázovou aktivitou, který plní za fyziologických podmínek různé funkce (regulace buněčného růstu, migrace, invazivita nádorových buněk a endotelií). V průběhu vývoje je exprimován v nervové soustavě a reguluje zde správný růst a vývoj CNS. V dospělosti je exprimován v mozku a ve varlatech [230]. Z genetických alterací genu ALK je kromě mutací a amplifikací důležitá zejména přestavba genu v podobě translokace nebo inverze. Přestavba genu ALK byla poprvé popsána u anaplastického velkobuněčného lymfomu v podobě translokace NPM1-ALK [231]. U NSCLC se přestavba genu ALK vyskytuje asi u cca 3-4% pacientů, nejčastějším inverzním partnerem je v tomto případě gen EML4 (*echinoderm microtubule associated protein like 4*). Jde o paracentrickou inverzi mezi oblastmi 2p21 a 2p23, kterou se kinázová doména dostane na počátek genu EML4 a následně je exprimován fúzní protein EML4-ALK. Gen ALK se štěpí v místě exonu 20, gen EML4 nejčastěji v exonech 6 a 13. Podle typu štěpení existují různé varianty EML4-ALK fúzního proteinu. U NSCLC představuje EML4-ALK 99% všech ALK translokací, méně častými jsou TFG-ALK, KIF5-ALK [192]. Důsledkem vzniku translokace EML4-ALK je aberantní aktivace kinázové aktivity ALK, což vede ke stimulaci proliferace a inhibici apoptózy nádorových buněk. Podobně jako u mutací genu EGFR je relativně vyšší výskyt ALK translokací u pacientů s adenokarcinomem, nekuřáků nebo slabých kuřáků, žen, asiátů a u osob mladšího věku [233-235]. Translokace genu ALK představují významný prediktivní biomarker pro léčbu ALK inhibitory, jako je crizotinib. Crizotinib je dnes již běžně užíván u pacientů s prokázanou translokací genu ALK. I zde se můžeme setkat se vznikem rezistence, jejíž příčinou bývají často tzv. rezistentní mutace, například C1156Y a L1196M a některé další. Za účelem překonání takto vzniklé sekundární rezistence byly vyvinuty ALK inhibitory druhé generace, ceritinib a alectinib, které jsou účinné i při vzniku rezistence na crizotinib [236].

Přestavba genu ROS1

Gen ROS1 je lokalizován na chromozomu 6 (q22) a kóduje tyrosin kinázový receptor se strukturální podobností k ALK proteinu. Přesná role proteinu ROS1 v normálním vývoji, jakož i jeho normální fyziologické ligandy zatím nebyly jednoznačně definovány. Bylo zjištěno, že přestavba genu ROS1 představuje významný onkogenní driver u různých nádorových onemocnění [237]. Poprvé byla identifikována u glioblastomu, následně u NSCLC a některých dalších maligních nádorů [237-239]. U NSCLC se přestavba genu ROS1

vyskytuje asi u cca 1-2% pacientů a může mít různé formy podle specifického inverzního partnera. Mezi nejčastěji popisované formy patří: FIG-ROS1; SLC34A2-ROS1; CD74-ROS1; SDC-ROS1; EZR-ROS1; LRIG3-ROS1; TPM3-ROS1 [237]. Translokace genu ROS1 a ALK jsou vzájemně exkluzivní, tedy nevyskytují se v nádoru současně [240]. Podobně jako u translokací ALK je relativně vyšší výskyt ROS1 přestavby u pacientů s adenokarcinomem, nekuřáků nebo slabých kuřáků, žen, asiátů a u osob mladšího věku. Přestavby genu ROS1 představují významný prediktivní biomarker pro léčbu ALK inhibitory první i druhé generace (crizotinib, ceritinib, alectinib) [111].

Význam histologického typu pro výběr pacientů k vyšetření mutací EGFR, ALK a ROS1

Jak bylo již zmíněno, mezi histologickými subtypy NSCLC existují významné odlišnosti, které jsou podstatné zejména na úrovni nádorové genetiky. U pacientů s adenokarcinomem se můžeme relativně častěji setkat s výskytem prediktivních genetických alterací v podobě aktivačních mutací genu EGFR nebo translokací genů ALK a ROS1 [142, 150]. S ohledem na velmi nízký výskyt těchto genetických alterací u pacientů se skvamózním NSCLC se jeví genetické testování nádorové tkáně těchto pacientů jako málo výtěžné. Navíc není zcela jasné, jakou mají tyto mutace u skvamózního karcinomu prediktivní výpověď. Na základě těchto zkušeností bylo přijaté obecně platné doporučení, geneticky testovat nádorovou tkáň pouze u pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC [241, 242].

Histologický typ jako prediktivní faktor pro cílenou léčbu

Význam histologického typu pro léčbu nintedanibem

Výsledky randomizované klinické studie fáze III (viz kapitola: Preparáty cílené léčby užívané v léčbě NSCLC) ukázaly, že léčba nintedanibem (v kombinaci s docetaxelem) ve druhé linii přináší významné prodloužení přežití pouze u pacientů s adenokarcinomem [78]. Histologický typ tak představuje významný prediktivní faktor pro léčbu nintedanibem. Na základě těchto výsledků byl nintedanib v kombinaci s docetaxelem schválen pro druholiniovou léčbu selektované populace pouze pacientů s histologickým typem adenokarcinom [40, 41].

Význam histologického typu pro léčbu bevacizumabem

Výsledky několika randomizovaných klinických studií ukázaly, že léčba bevacizumabem (v kombinaci s chemoterapií) přináší významné riziko krvácení zejména u pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC [73, 74, 243]. Z tohoto důvodu je bevacizumab užíván pro léčbu pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC [40, 41].

Prediktivní faktory pro chemoterapii

Histologický typ

Výsledky klinických studií prokázaly významně vyšší efektivitu pemetrexedu u pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC [244]. U těchto pacientů léčených pemetrexedem bylo prokázáno významné prodloužení přežití v porovnání s komparátorem v podobě docetaxelu (monoterapie po selhání chemoterapie) a kombinace cisplatina a gemcitabin (kombinace s cisplatinou v první linii léčby) [44, 46]. Histologický typ tak představuje významný prediktivní faktor pro léčbu pemetrexedem. Na základě těchto poznatků je pemetrexed používán jako standardní cytostatikum k léčbě pacientů s pokročilým NSCLC predominantně neskvamózního histologického typu [40, 41].

Exprese genu ERCC1

Gen ERCC1 (*excision-repair cross complementation group 1*, ERCC1) kóduje protein s enzymatickou aktivitou, který spolu s ERCC4 vytváří enzymatický komplex označovaný jako ERCC1-XPF, který se významným způsobem podílí na opravě poškozené DNA [243]. Existuje několik modelů průběhu nukleotidové excizní opravy za účasti celé řady proteinů. Systém nukleotidové excizní opravy (*nucleotide excision repair*, NER) je velice důležitý a narušení tohoto procesu může mít pro organismus fatální důsledky. DNA reparační mechanismy umožňují zachování integrity genomu schopností odstranit poškození DNA vzniklá například působením různých nežádoucích látek z okolního prostředí, vlivem UV záření, ale také působením některých cytostatik, jejichž mechanismus účinku je založen na poškození DNA nádorových buněk, respektive navození genotoxického stresu. Vyřazení systému NER v důsledku různých genetických alterací je časté u řady zhoubných nádorů [243]. Na druhou stranu zvýšená aktivace těchto reparačních mechanismů významně snižuje léčebný efekt některých cytostatik ze skupiny alkylačních látek. V mnoha publikovaných studiích byla prokázána rezistence k cisplatině způsobená zvýšenou schopností nádorové buňky opravit poškozenou DNA, vznikající na podkladě zvýšené exprese genu ERCC1 [244]. Zvýšená exprese ERCC1 je příznivým prognostickým ukazatelem u časných stadií NSCLC [245]. Naproti tomu však u pacientů s NSCLC léčených chemoterapií na bázi cisplatiny představuje exprese ERCC1 významný prediktivní faktor, kdy lepšího efektu chemoterapie je dosahováno u pacientů s nízkou expresí ERCC1. Tento prediktivní význam byl prokázán u pacientů po radikální resekcii nádoru léčených adjuvantní chemoterapií i u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených paliativní chemoterapií [246-248].

Exprese genu RRM1

Gen RRM1 (*ribonucleotide reductase subunit M1*) kóduje regulační podjednotku ribonukleotid reduktázy. Ribonukleotid reduktáza je klíčový enzym zapojený do syntézy DNA a exprese RRM1 ovlivňuje odpověď nádoru na gemcitabin zřejmě prostřednictvím enzymu cytidin deaminázy [251]. Provedené klinické studie prokázaly, že zvýšená exprese RRM1 predikuje rezistenci NSCLC k léčbě gemcitabinem [250, 252].

Thymidilát syntetáza

Thymidilát syntetáza (TS) je enzym, který hraje klíčovou roli při syntéze DNA. Katalyzuje konverzi deoxyuridin monofosfátu (dUMP) na deoxythymidin monofosfát (dTMP). Hlavní úloha TS tedy spočívá v syntéze thymidilátu, který je následně inkorporován do DNA. Z tohoto důvodu je TS cílem některých protinádorových léků, kam patří fluoropyrimidiny (5-fluorouracilu), které našly nezastupitelnou úlohu zejména v léčbě nádorů gastrointestinálního traktu. Dalším významným cytostatikem, které působí inhibicí TS je pemetrexed, který je běžně užíván v léčbě NSCLC. Exprese TS byla v minulosti zkoumána jako potenciální prediktivní faktor pro pemetrexed. Provedené studie prokázaly vyšší efekt pemetrexedu u pacientů s nízkou expresí TS. Rovněž bylo prokázáno, že exprese TS se významně liší podle histologického typu NSCLC, vyšší exprese TS je asociována zejména se skvamózním karcinomem [253]. To je zřejmě hlavní důvod prokázané nižší efektivity pemetrexedu u pacientů se skvamózním karcinomem [254].

Exprese genu BRCA1

Gen BRCA1 (*Breast cancer susceptibility gene 1*) patří mezi tzv. tumor supresorové geny. Jeho produkt je důležitou součástí v multiproteinových komplexů, které jsou významné pro udržení stability genomu. Je součástí komplexů řídících reparaci poškozené DNA, účastní se aktivace transkripce a regulace buněčného cyklu. Jeho poškození způsobuje hromadění mutačních změn v buňce a může vyústit v její maligní transformaci. Je známo, že hereditární (gametické) mutace genu BRCA1 způsobují predispozici ke vzniku nádoru prsu a celé řady dalších nádorových onemocnění. V posledních letech stoupá zájem o význam BRCA1 jako prognostického nebo prediktivního faktoru u různých nádorů, včetně NSCLC. Bylo zjištěno, že nízká exprese BRCA1 je spojena s lepší prognózou pacientů s časným stadiem NSCLC po radikálním chirurgickém výkonu [255]. BRCA1 hraje klíčovou roli při opravě DNA a také ovlivňuje mitotickou aktivitu. Z těchto důvodů nízká exprese genu BRCA1 může predikovat lepší výsledky při léčbě alkylačními látkami, která poškozují DNA, jako je cisplatina. Na druhou stranu, zvýšená exprese genu BRCA1 může predikovat benefit při použití cytostatik, které působí jiným mechanismem, například poškozením struktury a funkce mikrotubulů, jako jsou taxany [256, 257].

β tubulin III

β tubulin III (BT3) je protein kódovaný genem lokalizovaným na dlouhém raménku 16. chromozomu. Jako člen tzv. tubulinové rodiny se podílí na tvorbě mikrotubulů. β tubulin společně s α tubulinem představují základní stavební prvky mikrotubulu, vytvářejí lineární vlákno se střídajícími se podjednotkami α a β , které je označováno jako protofilamentum. Intaktní funkce mikrotubulárních struktur mají zásadní význam pro tvorbu mitotického vřeténka a správný průběh mitózy [258]. V léčbě maligních nádorů jsou běžně užívána cytostatika, jejichž mechanismus účinku spočívá právě v ovlivnění struktury a funkce mikrotubulů, respektive v inhibici polymerizace (stabilizace) mikrotubulů (vinca alkaloidy) nebo v inhibici depolymerizace (destabilizace) mikrotubulů (taxany). Tyto preparáty jsou běžně užívané i v léčbě NSCLC. BT3 snižuje stabilitu mikrotubulů vedoucí k rezistenci

k cytostatikům, které způsobují stabilizaci mikrotubulů (inhibují depolymerizaci), kam patří taxany. Bylo zjištěno, že vysoká exprese BT3 je asociována s horší odpovědí na léčbu chemoterapií, rychlejší progresí onemocnění a kratším přežíváním pacientů. V některých studiích bylo prokázáno, že vysoká exprese BT3 je spojená s rezistencí nádorových buněk k taxanům (paclitaxel, docetaxel) u NSCLC, karcinomu ovária, prostaty, prsu a pankreatu [259-262]. Výsledky většiny publikovaných studií potvrzují, že u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC je nízká exprese BT3 spojena s odpovědí na léčbu a lepšími klinickými výsledky, pokud jsou léčeni preparáty, které inhibují depolymerizaci mikrotubulů [263-267]. Tyto výsledky naznačují, že exprese BT3 je potenciálním prediktivním faktorem pro chemoterapii u NSCLC.

Prediktivní faktory pro imunoterapii

Expresce programmed death-ligand 1 (PD-L1)

Programmed death-ligand 1 (PD-L1), známý též jako CD 274 nebo B7 homolog 1 (B7-H1) je transmembránový protein, který sehrává důležitou úlohu v regulaci imunitní odpovědi, kde působí její supresi. Vazbou PD-L1 na PD-1 receptor dochází ke vzniku inhibičního signálu, který vede k potlačení proliferace zejména T-lymfocytů CD8+. Tento imunosupresivní efekt je považován za významný faktor umožňující únik nádorových buněk imunitě. Na druhou stranu, inhibice tohoto efektu je podstatou mechanismu některých moderních protinádorových léčiv [120-122]. Expresce PD-L1 u různých nádorů se liší a často je spojována s horší prognózou [268]. U NSCLC je exprese PD-L1 popisována u cca 16-68% pacientů. Prognostický význam exprese PD-L1 u NSCLC není zcela jasný. V minulosti byla publikována řada studií, některé potvrdily expresi PD-L1 jako významný nepříznivý prognostický faktor, jiné nikoliv. Recentně byly publikovány dvě metaanalýzy s odlišným závěrem. Výsledky metaanalýzy provedené na souboru 1157 pacientů s NSCLC publikované Wangem et. al. ukazují nepříznivý prognostický význam exprese PD-L1 [269]. Na druhou stranu, výsledky druhé metaanalýzy, které publikovali Wu et al. tento prognostický význam neprokázaly [268]. V poslední době se ukazuje, že exprese PD-L1 je nadějný prediktivní biomarker pro imunoterapii anti-PD-1, případně anti-PD-L1 *check-point* inhibitory. Výsledky většiny publikovaných studií u NSCLC ukazují významně lepší efekt imunoterapie anti-PD-1/anti-PD-L1 inhibitory u pacientů s prokázanou expresí PD-L1 [270-275]. Na druhou stranu, je fakt, že byly publikovány i výsledky, které tento prediktivní význam nepotvrdily [276-278]. Výsledky metaanalýzy, které recentně publikovali Passiglia et al. potenciální prediktivní význam exprese PD-L1 potvrdily [279].

Interferon gama

Interferon gama je dimerní solubilní cytokin vznikající při stimulaci leukocytů (zejména lymfocytů), který má zásadní význam pro přirozenou i získanou imunitu. Jde o významný aktivátor makrofágů, stimulant exprese MHC I. třídy a, krom jiného, hraje významnou roli v regulaci imunitní odpovědi. Je produkován zejména NK buňkami a CD4+ a CD8+ T-lymfocyty [121, 122]. Některé publikované práce ukazují potenciální prediktivní význam exprese interferonu gama v nádoru. Higgs et al. recentně publikovali výsledky studie,

kde prokázaly korelaci IFN-gama mRNA v nádoru s efektem léčby durvalumabem (anti-PD-L1 monoklonální protilátka). Při kombinaci IFN-gama mRNA a PD-L1 exprese bylo dosaženo ještě lepších výsledků a zdá se, že kombinace těchto dvou biomarkerů může mít silný prediktivní potenciál pro tento typ imunoterapie [279].

Okruh I.: Význam molekulárně-genetických biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP1: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Benešová L., Minárik M.: EGFR mutace u pacientů s pokročilým NSCLC. *Klin Onkol*, 2012, 25, 4, s. 267-273. **(Příloha, str. 6-12)**

HP2: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. *Anticancer Res*, 2013, 33, 4, p. 1705-1711. **(Příloha, str. 13-19)**

HP3: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Minárik M., Benešová L., Sorejs O., Svaton M., Bortlíček Z., Kucera R., Topolcan O.: Epidermal Growth Factor Receptor Gene Amplification in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 455-460. **(Příloha, str. 20-25)**

HP4: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Belsánová B., Minárik M.: The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet*, 2013, 206, 1-2, p. 26-31. **(Příloha, str. 26-31)**

HP5: Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Tupý R., Minárik M.: Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem - kazuistika. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2013, 73, 3, s. 105-108. **(Příloha, str. 32-35)**

HP6: Svaton M., Fiala O., Pešek M., Bortlíček Z., Minárik M., Benešová L., Topolcan O.: The Prognostic Role of KRAS Mutation in Patients with Advanced NSCLC Treated with Second- or Third-line Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 3, p. 1077-1082. **(Příloha, str. 36-41)**

HP7: Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2011, 71, 3, s. 100-104. **(Příloha, str. 42-46)**

HP8: Pešek M., Mináriková L., Kopečková M., Belšánová B., Fiala O., Minárik M.: Možnosti testování DNA mutací a DNA metylační analýzy cirkulující volné nádorové DNA (tumor cell-free DNA) izolované z periferní krve nemocných s NSCLC. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2012, 72, 3, s. 137-141. **(Příloha, str. 47-51)**

HP9: Fiala O., Pešek M., Skricková J., Kolek V., Salajka F., Tomisková M., Satanková M., Kultán J., Kulisková J., Svaton M., Hrnčiarik M., Hejduk K., Chloupková R., Topolcan O., Hornychová H., Nova M., Ryska A., Fínek J.: Thyroid transcription factor 1 expression is associated with outcome of patients with non-squamous non-small cell lung cancer treated with pemetrexed-based chemotherapy. *Tumour Biol*, 2017, 39, 2, 1010428317691186. **(Příloha, str. 52-59)**

Komentář - Okruh I

Publikace zařazené v tomto okruhu jsou zaměřeny na problematiku významu vybraných molekulárně-genetických biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu systémové onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Konkrétně jsme se věnovali zejména významu mutací a amplifikací genu EGFR, dále mutací genů KRAS a PIK3CA a expresi Thyroidálního transkripčního faktoru 1 (TTF-1). Publikace Okruhu I jsou v plném znění připojeny jako **Příloha (str. 6-59)**.

V publikaci „**EGFR mutace u pacientů s pokročilým NSCLC (HP1, Příloha, str. 6-12)**“ jsme se zaměřili na zmapování výskytu a prediktivního významu těchto mutací v naší populaci na velkém souboru, čítajícím 613 pacientů. V této studii jsme prokázali přítomnost aktivačních mutací genu EGFR celkem u 11,9% vyšetřených nádorů. Mutace byly častěji zjištěny u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků. Výsledky ukazují relativně vyšší výskyt EGFR mutací u nádorů skvamózního histologického typu (7,5%), než bývá většinou popisován v literatuře [163-166]. Tento rozdíl byl zřejmě částečně ovlivněn faktem, že u námi testovaných pacientů se skvamózním karcinomem se nejednalo o zcela neselektovanou populaci pacientů a genetické vyšetření zde bylo preferenčně prováděno u žen, nekuřáků, nebo pacientů s nižší kuřáckou zátěží. Na druhou stranu, faktem je, že rozsáhlé studie, které by se zabývaly výskytem aktivačních mutací genu EGFR u pacientů se skvamózním karcinomem u neselektované populace Evropanů není mnoho. Naše výsledky jednoznačně potvrdily význam aktivačních mutací genu EGFR pro predikci efektu léčby EGFR-TKI (erlotinib, gefitinib) u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. U pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR bylo dosaženo statisticky signifikantně delšího PFS i OS než u pacientů s *wild-type* EGFR genem. Tyto výsledky jsou v souladu s daty, která byla publikovaná jinými autory [94, 169-177]. Subanalýza přežití pacientů, ukazuje, že prediktivní význam EGFR mutací platí pouze pro pacienty s neskvamózním histologickým typem NSCLC. Oproti tomu, u pacientů se skvamózním histologickým typem jsme nezjistili signifikantní rozdíly v PFS ani OS. Toto zjištění nás vedlo k pozdějšímu zpracování podrobnější analýzy zaměřené na výskyt a význam mutací genu EGFR u rozšířeného souboru pacientů se skvamózním karcinomem. Kromě EGFR mutací jsme se zde zaměřili ještě na mutace genů KRAS a PIK3CA. Výsledky této analýzy jsme publikovali v práci „**Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy (HP2, Příloha, str. 13-19)**“. Zde jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíly v PFS ani OS v závislosti na přítomnosti mutací genu EGFR nebo mutací genu PIK3CA. U mutací genu KRAS jsme prokázali statisticky signifikantní rozdíl v OS, kdy pacienti s touto mutací dosahovali kratšího přežití, rozdíl v PFS zde nebyl statisticky signifikantní. Stran mutací genu EGFR jsme zde provedli zajímavé srovnání přežívání nositelů mutace genu EGFR mezi pacienty s adenokarcinomem a skvamózním karcinomem. Výsledky tohoto srovnání ukázaly vysoce signifikantní rozdíly v přežití mezi oběma skupinami, kdy výrazně lepších výsledků bylo dosaženo ve skupině s adenokarcinomem. Tyto výsledky ukazují, že mutace genu EGFR pravděpodobně nemají

prediktivní hodnotu u pacientů se skvamózním karcinomem. Ke stejnému závěru došli Shukuya et al. v publikované metaanalýze [281]. Jednoznačné vysvětlení pro toto zjištění v současné době neexistuje. Nesporným faktem je, že histologické typy NSCLC se od sebe významně odlišují v mnoha ohledech na úrovni genetiky, epigenetiky i proteomiky. Příkladem mohou být mutace nebo amplifikace genu PIK3CA, který kóduje podjednotku proteinu, který je významnou součástí signální dráhy EGFR. Takové genetické alterace pak mohou být důvodem rezistence k léčbě cílené na EGFR signální dráhu [227]. Bylo zjištěno, že alterace genu PIK3CA se u skvamózního karcinomu vyskytují častěji, v porovnání s adenokarcinomem [148, 149, 282]. Z tohoto důvodu jsme v této práci zkoumali také význam PIK3CA mutací. Konkrétně jsme zvolili mutace na exonu 9, které byly popsány jako nejčastější typ těchto mutací u NSCLC [148]. Mutace genu PIK3CA jsme nacházeli relativně vzácně, respektive pouze u 3,8% nádorů a jejich výskyt nekoreloval s přežíváním pacientů léčených EGFR-TKI. Oproti původně očekávané rezistenci k léčbě jsme se zde setkali spíše s trendem delšího PFS u pacientů s prokázanou PIK3CA mutací. Tyto, byť statisticky nesignifikantní, výsledky kontrastují s prací publikovanou autory Ludovini et al., kteří prokázali významně kratší přežití pacientů s touto mutací, avšak jejich studie zahrnovala histologicky neselektovanou skupinu pacientů s NSCLC (převážně neskvamózní typ), oproti naší práci soustředěné čistě na skvamózní histologický typ [283]. Faktem je, že co se týče významu mutací PIK3CA, z obou studií nelze vyvozovat velké závěry, neboť čítají relativně nízké počty pacientů, respektive těch s prokázanou mutací.

Výskyt a význam amplifikace genu EGFR u pacientů léčených EGFR-TKI jsme hodnotili v práci „**Epidermal Growth Factor Receptor Gene Amplification in Patients with Advanced-stage NSCLC (HP3, Příloha, str. 20-25)**“. Amplifikaci genu EGFR jsme prokázali u 9% nádorů. Ke stanovení amplifikace jsme používali metodu MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), která, v dosud publikovaných pracích, nebyla užívána. Četnost námi zjištěných EGFR amplifikací dobře odpovídá dříve publikovaným datům, kde byla ke stanovení užívána metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) [174, 284]. Prokázali jsme významnou asociaci mezi amplifikací genu EGFR a jeho mutačním stavem, kdy jsme u nádorů s EGFR mutací výrazně častěji nalézali i amplifikaci tohoto genu. Asociaci mezi EGFR mutací a amplifikací prokázali rovněž Hirsh et al. [174]. Toto zjištění nabádá k zajímavé, čistě hypotetické, otázce, zda tu může být příčinná souvislost? Respektive, zda vznik EGFR mutace nevede k amplifikaci genu, nebo naopak? Najít odpověď na tuto otázku lze však jen velmi obtížně. Co se týče prediktivního významu EGFR amplifikace, při analýze přežití celého souboru pacientů jsme pozorovali trend k delšímu PFS u pacientů s prokázanou amplifikací EGFR, který však nebyl statisticky signifikantní. S ohledem na zmiňované zjištění časté koincidence EGFR mutací a EGFR amplifikace jsme provedli subanalýzu přežití selektivně u pacientů s nádory s *wild-type* EGFR genem. Zde jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíly v PFS ani OS v závislosti na přítomnosti EGFR amplifikace. Trend delšího PFS u pacientů s nádory s EGFR amplifikací se zde zcela vytratil. Výsledky naší studie ukazují, že EGFR amplifikace sama nepředstavuje biomarker využitelný k predikci efektu léčby EGFR-TKI u pacientů s *wild-type* EGFR genem. Prediktivní význam EGFR amplifikace, v minulosti popisovaný některými autory, je tedy pravděpodobně důsledkem časté koincidence s EGFR mutacemi [189, 190, 196]. Naše výsledky tak potvrzují

data publikovaná autory Fukuokou et al., kteří neprokázali prediktivní význam EGFR amplifikací u pacientů zařazených do klinické studie fáze III, IPASS [188].

Na zmapování výskytu a významu mutací genu KRAS jsme se zaměřili v práci „**The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer (HP4, Příloha, str. 26-31)**“. Mutace genu KRAS jsme prokázali u 15,4% nádorů. Jejich výskyt byl častý zejména u pacientů s adenokarcinomem a kuřáků. Tato zjištění jsou v souladu s daty uváděnými v literatuře [285]. Dále jsme zkoumali význam specifického typu KRAS mutace. Transverze thyminu na guanin na 12. kodonu genu KRAS, která ve svém důsledku vede k záměně aminokyseliny glycinu za cystein (G12C), ve struktuře KRAS proteinu, se ukázala jako nejčastější typ mutace KRAS. Byla identifikována u více jak poloviny případů. Pozoruhodným faktem je, že různé zhoubné nádory vykazují, krom rozdílu v samotném výskytu KRAS mutací, i výrazně odlišné zastoupení jednotlivých typů této mutace. Dominantní zastoupení G12C KRAS mutací u NSCLC kontrastuje například s karcinomem pankreatu nebo kolorektálním karcinomem, kde dominuje zastoupení G12D KRAS mutace [286, 287]. Tento rozdíl je možné vysvětlit rozdílnou etiopatogenezí vlastního nádorového onemocnění, pravděpodobně zejména významem kouření tabáku. Polycyklické aromatické uhlovodíky (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH), které vznikají nedokonalým spalováním tabáku, dávají vznik reaktivním metabolitům, které pak interakcí s DNA vytvářejí tzv. DNA addukty. Hlavní DNA addukt vznikající z benzo(a)pyrenu je (+)-anti-benzo(a)pyren-guaninový addukt, tento má silné mutagenní účinky a vede primárně ke vzniku guanin-thymin transverzí, které na 12. kodonu vedou ke vzniku mutace G12C, jak bylo uvedeno výše [288]. Dominantní zastoupení G12C KRAS mutací u NSCLC tedy zřejmě vzniká v příčinné souvislosti s kouřením tabáku [288, 289]. U pacientů s prokázanou mutací genu KRAS bylo dosaženo statisticky signifikantně kratšího PFS, rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní. Následná subanalýza zaměřená na význam typu KRAS mutace ukázala zajímavé výsledky. Prokázali jsme statisticky signifikantně delší PFS u pacientů s nonG12C KRAS mutací oproti pacientům s mutací G12C KRAS, rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní, ale byl zde patrný výrazný trend delšího přežívání u pacientů s nonG12C KRAS mutací. Srovnání přežití pacientů s mutací G12C KRAS a pacientů s *wild-type* KRAS (a *wild-type* EGFR) genem ukázalo statisticky signifikantně kratší PFS i OS u pacientů s mutací G12C KRAS. Oproti tomu, srovnání přežití pacientů s mutací nonG12C KRAS a pacientů s *wild-type* KRAS (a *wild-type* EGFR) genem neukázalo statisticky signifikantní rozdíl v PFS ani v OS. Na podkladě těchto výsledků lze vyslovit hypotézu, že zřejmě ne všechny mutace genu KRAS vedou k permanentní stimulaci GTPázové aktivity KRAS proteinu ve stejné míře a tedy ke vzniku primární rezistence NSCLC k léčbě EGFR-TKI. O významu typu KRAS mutace pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC je dosud známo jen velmi málo. Garassino a kol. v minulosti publikovali výsledky experimentální práce, ve které prokázali odlišnou senzitivitu nádorových buněčných linií k různým typům léčby, právě v závislosti na typu mutace KRAS [220, 221]. Primární rezistenci k EGFR-TKI je možné tedy s vysokou pravděpodobností predikovat pouze u pacientů s mutací KRAS typu G12C. Léčba EGFR-TKI u takových pacientů se jeví jako zcela neúčinná. Naproti tomu však, u pacientů s jiným typem mutace

genu KRAS, než je typ G12C, je účinnost léčby EGFR-TKI srovnatelná s pacienty s *wild-type* KRAS a *wild-type* EGFR, ačkoli výsledky léčby nejsou zdaleka uspokojivé.

Možnost dosažení dobrého efektu erlotinibu u pacienta s nádorem s nonG12C typem KRAS mutace jsme doložili publikovanou kazuistikou „**Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem – kazuistika (HP5, Příloha, str. 32-35)**“. Zde popisujeme případ pacienta s metastatickým stadiem NSCLC, u něhož bylo, při léčbě erlotinibem ve třetí linii, dosaženo parciální regrese trvající po dobu dvanácti měsíců.

Význam mutací genu KRAS u pacientů léčených chemoterapií druhé nebo třetí linie jsme studovali v práci „**The Prognostic Role of KRAS Mutation in Patients with Advanced NSCLC Treated with Second- or Third-line Chemotherapy (HP6, Příloha, str. 36-41)**“. Prokázali jsme zde statisticky signifikantně kratší OS u pacientů s KRAS mutací, při čemž nejkratšího OS bylo dosaženo u pacientů s G12C typem mutace. Tento rozdíl v OS lze zřejmě přičítat obecně nepříznivému prognostickému významu těchto KRAS mutací, podobně jak popisují někteří autoři, kteří hodnotili význam KRAS mutací u pacientů s časným stadiem NSCLC po radikální operaci nebo u pacientů s pokročilým onemocněním léčených paliativní chemoterapií první linie [290-292]. Oproti tomu, rozdíl v PFS prokázáný pouze u pacientů léčených EGFR-TKI, ale nikoliv u pacientů léčených chemoterapií, nasvědčuje tomu, že mutace genu KRAS, respektive typ G12C zřejmě představuje faktor predikující rezistenci k léčbě EGFR-TKI.

O poněkud odlišný pohled na význam prediktivních biomarkerů jsme se pokusili v práci „**Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory (HP7, Příloha, str. 42-46)**“, kde jsme se nesnažili hodnotit efekt léčby EGFR-TKI podle jednotlivých potenciálních prediktivních biomarkerů, ale z celkového množství takto léčených pacientů, byl vybrán soubor s relativně dlouhým PFS, trvajícím po dobu šesti měsíců, a tento byl podrobněji analyzován. Výsledky studie potvrzují důležitost vyšetřování aktivačních mutací genu EGFR. Na druhou stranu je vidět, že i relativně velké množství pacientů bez prokázané aktivační mutace EGFR (58,6% pacientů s PFS nad 180 dní) může dobře profitovat z léčby EGFR-TKI a je tedy nutné hledat další potenciální prediktivní biomarkery. V souboru pacientů s délkou trvání PFS nad 180 dní bylo zasoupeno 7,5% pacientů s mutací genu KRAS. Protože jde o práci staršího data, nebyl zde analyzován význam specifického typu této mutace. Nicméně, v kontextu výše zmiňovaných výsledků prací, které následovaly, lze předpokládat, že zastoupení pacientů s PFS nad 180 dní je tvořeno převážně pacienty s jiným typem KRAS mutace než G12C.

V poslední době je hodně diskutovaným tématem, nejen v oblasti NSCLC, otázka stanovení prediktivních mutací z periferní krve. Jde o elegantní vyšetření, kterým je možné stanovit přítomnost somatických nádorových mutací z vyšetření periferní krve, bez nutnosti odběru biopsie, respektive rebiopsie. Co se týče NSCLC, právě zde jde o velmi výhodnou metodu, protože se v klinické praxi poměrně často setkáváme s případy, kde se nedaří získat dostatečné množství kvalitní nádorové tkáně, využitelné k provedení molekulárně-genetického vyšetření. Krom toho se zde setkáváme se vznikem získané rezistence na EGFR-TKI první generace, často způsobené rezistentním typem EGFR mutace, T790M [178-181]. Nástupem EGFR-TKI třetí generace (osimertinib) je možné nabídnout cílenou léčbu právě pacientům s takto vzniklou rezistencí [102]. Provedení rebiopsie je v těchto případech

mnohdy technicky problematické a pacienta značně zatěžující. Z těchto důvodů má využití tzv. tekuté biopsie (*liquid biopsy*) u NSCLC velký potenciál a rovněž tomuto tématu se v poslední době začínáme věnovat, jak je popsáno v pilotní publikaci „**Možnosti testování DNA mutací a DNA metylační analýzy cirkulující volné nádorové DNA (tumor cell-free DNA) izolované z periferní krve nemocných s NSCLC (HP8, Příloha, str. 47-51)**“.

Na problematiku predikce a prognózy u pacientů léčených chemoterapií jsme se zaměřili v práci „**Thyroid transcription factor 1 expression is associated with outcome of patients with non-squamous NSCLC treated with pemetrexed-based chemotherapy (HP9, Příloha, str. 52-59)**“.

Jedná se o analýzu dat pacientů léčených ve čtyřech významných pneumo-onkologických pracovištích v ČR. Díky této spolupráci jsme měli k dispozici relativně velký soubor čítající celkem 463 pacientů. S expresí Thyroidálního transkripčního faktoru 1 (TTF-1) se často setkáváme zejména u adenokarcinomů, avšak ne ve všech případech, zhruba 20-30% nádorů hodnocených jako adenokarcinom TTF-1 neexprimuje [293, 294]. Prognostický význam exprese TTF-1 byl v minulosti zkoumán v několika retrospektivních studiích s různými výsledky [293-300]. Většina těchto prací byla zaměřena na prognostický význam u operovaných pacientů s časným stadiem onemocnění. V naší práci jsme se zaměřili na souvislost exprese TTF-1 s přežitím pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC léčených chemoterapií založenou na pemetrexedu. Do studie byli zařazeni všichni pacienti léčení pemetrexedem, tedy v první linii kombinací s cisplatinou a v druhé nebo třetí linii v monoterapii. S ohledem na tuto heterogenitu souboru jsme dále provedli subanalýzu zaměřenou separátně na pacienty léčené v první linii a pacienty léčené ve druhé nebo třetí linii. Výsledky této práce ukázaly statisticky signifikantní rozdíly v PFS i OS, kdy delšího přežití dosahovali pacienti s prokázanou expresí TTF-1 v nádorové tkáni. Subanalýza podle linie léčby ukázala, že tento rozdíl byl významný, jak u pacientů léčených v první, tak ve druhé nebo třetí linii. U pacientů léčených v první linii byl rozdíl v přežití výraznější, což lze přičítat faktu, že v první linii byl pemetrexed často užíván v režimu udržovací léčby u pacientů s dobrou léčebnou odpovědí, respektive u těch, kde nedošlo k progresi po léčbě kombinací s cisplatinou. Toto zřejmě více rozevřelo nůžky mezi oběma srovnávanými skupinami. Naše výsledky jsou srovnatelné s výsledky, které publikovali Sun et al., nicméně jejich studie byla provedena na výrazně menším souboru pacientů, který čítal zejména málo pacientů léčených v první linii [300]. Protože nemáme k dispozici kontrolní soubor, léčený jiným typem chemoterapie než pemetrexedem, nelze jednoznačně tvrdit, že je exprese TTF-1 faktorem prediktivním, vhodným pro selekci pacientů k léčbě pemetrexedem. Toto by bylo vhodné ověřit v rámci prospektivní klinické studie v budoucnu, případně alespoň provedením metaanalýzy již existujících dat.

Souhrn – Okruh I

- **Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 11,9% NSCLC, častěji u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků.**
- **Aktivační mutace genu EGFR predikují dobrý efekt EGFR-TKI.**
- **Aktivační mutace genu EGFR nemají prediktivní hodnotu u pacientů se skvamózním karcinomem.**
- **Mutace genu PIK3CA byly prokázány vzácně (3,8% nádorů).**
- **Výskyt PIK3CA mutací nekoreluje s efektem léčby EGFR-TKI.**
- **Amplifikace genu EGFR byla prokázána u 9% NSCLC.**
- **Významná asociace výskytu amplifikací genu EGFR a aktivačních mutací EGFR.**
- **Nepotvrzen prediktivní význam amplifikací genu EGFR pro léčbu EGFR-TKI.**
- **Mutace genu KRAS byly prokázány u 15,4% NSCLC, častěji u pacientů s adenokarcinomem a kuřáků.**
- **G12C byl nejčastější typ mutace KRAS, identifikován u více jak poloviny případů.**
- **Asociace G12C KRAS mutace s kratším PFS u pacientů léčených EGFR-TKI, u OS výrazný trend.**
- **U pacientů s nádory s nonG12C KRAS mutací neprokázán dopad na přežití při léčbě EGFR-TKI.**
- **Nepříznivý prognostický význam mutací KRAS u pacientů léčených chemoterapií druhé linie, nejkratší OS bylo zjištěno u nádorů s mutací G12C, rozdíl v PFS neprokázán.**
- **Asociace exprese TTF-1 s přežitím (PFS i OS) u pacientů s pokročilým NSCLC neskvamózního histologického typu, léčených pemetrexedem.**

Okruh II.: Význam sérových biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP10: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: Predictive Role of CEA and CYFRA 21-1 in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2013, 34, 6, p. 3205-3210. (**Příloha, str. 61-66**)

HP11: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: The Role of Neuron-specific Enolase (NSE) and Thymidine Kinase (TK) Levels in Prediction of Efficacy of EGFR-TKIs in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2014, 34, 9, p. 5193-5198. (**Příloha, str. 67-72**)

HP12: Fiala O., Pesek M., Finek J., Svaton M., Sorejs O., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic Significance of Serum Tumor Markers in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Pemetrexed-based Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 461-466. (**Příloha, str. 73-78**)

HP13: Fiala O., Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Poprach A., Buchler T.: High serum level of C-reactive protein is associated with worse outcome of patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib. *Tumour Biol*, 2015, 36, 12, 9215-9222. (**Příloha, str. 79-85**)

HP14: Fiala O., Hosek P., Pesek M., Finek J., Racek J., Buchler T., Poprach A., Hejduk K., Chloupkova R., Sorejs O., Ecksteinova M., Vitovec M., Cizkova K., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic role of serum C-reactive protein in patients with advanced-stage NSCLC treated with pemetrexed. *Neoplasma*, 64, 4, p. 605-610. (**Příloha, str. 86-91**)

HP15: Svaton M., Fiala O., Pesek M., Bruha F., Mukensnabl P., Racek J., Minarik M., Bortlicek Z.: Predictive and Prognostic Significance of Sodium Levels in Patients with NSCLC Treated by Erlotinib. *Anticancer Res*, 2014, 34, 12, p. 7461-7465. (**Příloha, str. 92-96**)

HP16: Fiala O., Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Svaton M., Kucera R., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Chloupkova R., Poprach A., Buchler T.: Change in Serum Lactate Dehydrogenase Is Associated with Outcome of Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2016, 36, 5, 2459-2465. (**Příloha, str. 97-103**)

HP17: Fiala O., Pesek M., Finek J., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Sorejs O., Kucera R., Topolcan O.: Serum albumin is a strong predictor of survival in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Neoplasma*, 2016, 63, 3, p. 471-476. (**Příloha, str. 104-109**)

Komentář - Okruh II

Publikace zařazené v tomto okruhu jsou zaměřeny na problematiku významu vybraných sérových biomarkerů pro stanovení prognózy a predikci efektu systémové onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Konkrétně jsme se věnovali zejména významu některých sérových nádorových markerů a některých rutinně stanovovaných biochemických markerů, jako je C-reaktivní protein, laktát dehydrogenáza nebo albumin. Publikace Okruhu II jsou v plném znění připojeny jako **Příloha (str. 61-109)**.

V publikaci „**Predictive Role of CEA and CYFRA 21-1 in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib (HP10, Příloha, str. 61-66)**“ jsme se zaměřili na prediktivní a prognostický význam dvou nejčastěji užívaných sérových onkomarkerů u NSCLC, které představují karcinoembryonální antigen (CEA) a CYFRA 21-1. Hodnotili jsme zde vztah předléčebných hodnot těchto onkomarkerů a přežití u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených erlotinibem. Jako cut-off hodnoty byly zvoleny limitní hodnoty sledovaných onkomarkerů. Prokázali jsme statisticky signifikantní rozdíl v PFS v závislosti na předléčebných hladinách CEA, rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní. Pacienti s nízkou hladinou CEA dosahovali delšího PFS. Naše výsledky nepotvrdily data v minulosti publikovaná Okamotoem et al. a Jungem et al., kteří pozorovali naopak delší přežití pacientů s vyšší hladinou CEA [301, 302]. Tento rozdíl je pravděpodobně možné přisuzovat především odlišné populaci pacientů, kdy obě zmiňované předchozí práce zahrnovaly Asiaty, naše práce zahrnovala bělochy. Je známo, že u Asiatů je častý výskyt mutací genu EGFR, které predikují dobrý efekt léčby EGFR-TKI, oproti tomu v bělošské populaci je výskyt těchto mutací relativně vzácný [163-166]. Naopak v bělošské populaci je častější výskyt mutací KRAS a BRAF, které predikují rezistenci k EGFR-TKI, respektive některé z nich [163-166]. Okamoto et al. ve své práci vyslovili hypotézu, že zvýšená exprese anti-apoptického proteinu CEA je způsobena aberantní aktivací mutovaného EGFR [301]. Na základě těchto indicií a v souladu s Okamotoovou hypotézou můžeme vyslovit domněnku, že elevace CEA u Asiatů je často v souvislosti s EGFR mutací, díky čemuž je spojena s lepším efektem léčby EGFR-TKI, oproti tomu u bělochů je častěji spojena naopak, s rezistentními mutacemi KRAS a BRAF a jen v menší míře s relativně vzácnými mutacemi EGFR, díky čemuž zde převládá asociace s horším efektem terapie. Co se týče významu hladin CYFRA 21-1, zde jsme prokázali statisticky signifikantní rozdíl v PFS i OS v závislosti na předléčebných hladinách CYFRA 21-1. Pacienti s nízkou předléčebnou hladinou CYFRA 21-1 dosahovali delšího PFS i OS. Tyto výsledky jsou ve shodě s těmi, které publikovali někteří další autoři [302-304]. Výsledky vícerozměrného Coxova modelu následně potvrdily, že CEA je významný nezávislý faktor ovlivňující PFS a CYFRA 21-1 představuje významný nezávislý faktor ovlivňující PFS i OS.

V publikaci „**The Role of Neuron-specific Enolase (NSE) and Thymidine Kinase (TK) Levels in Prediction of Efficacy of EGFR-TKIs in Patients with Advanced-stage NSCLC (HP11, Příloha, str. 67-72)**“ jsme se zaměřili na prediktivní a prognostický význam sérových onkomarkerů neuron-specifické enolázy (NSE) a thymidin kinázy (TK) u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených EGFR-TKI (erlotinib, gefitinib). Obdobně jako

v předchozí práci jsme i zde hodnotili vztah předléčebných hodnot těchto onkomarkerů a přežití pacientů. Jako cut-off byly opět zvoleny limitní hodnoty sledovaných onkomarkerů. Prokázali jsme statisticky signifikantní rozdíl v PFS i OS v závislosti na předléčebných hladinách jak NSE, tak TK. Pacienti s nízkou hladinou NSE a/nebo TK před léčbou dosahovali delšího přežití. Výsledky vícerozměrného Coxova modelu následně ukázaly, že pouze NSE je významný nezávislý faktor ovlivňující PFS, ale nikoliv OS. Význam hladin TK nebyl vícerozměrným Coxovým modelem potvrzen. Význam NSE u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC byl v minulosti zkoumán v několika retrospektivních studiích, především u pacientů léčených chemoterapií. Výsledky některých prací ukazují, že zvýšená hladina NSE predikuje lepší odpověď na chemoterapii [304-307]. Informací o významu NSE u pacientů léčených EGFR-TKI je však stále minimum. Wang et al. prokázali, že exprese mRNA NSE je asociovaná s efektem léčby gefitinibem, což je nepřímo v souladu s výsledky naší studie [308]. V naší práci jsme zvolili stanovení hladin NSE v séru, které je, v porovnání se stanovením exprese mRNA, jednoduché a relativně levné. Byli jsme tak první, kdo prokázal prediktivní potenciál sérových hladin NSE u pacientů léčených EGFR-TKI. Naše výsledky byly dále potvrzeny jinými autory [309, 310].

Získané poznatky o významu sérových onkomarkerů u pacientů léčených EGFR-TKI jsme se rozhodli dále aplikovat se zaměřením na pacienty léčené chemoterapií, konkrétně pemetrexedem. Výsledky jsme publikovali v práci „**Prognostic Significance of Serum Tumor Markers in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Pemetrexed-based Chemotherapy (HP12, Příloha, str. 73-78)**“. Zde jsme sledovali význam předléčebných hladin většího spektra sérových onkomarkerů, konkrétně: CEA, CYFRA 21-1, NSE, TK, MonoTotal, chromogranin A a squamous-cell carcinoma antigen (SCCA). I v této práci jsme jako cut-off zvolili limitní hodnoty sledovaných onkomarkerů. Prokázali jsme statisticky signifikantní rozdíl v OS asociovaný s hladinami CYFRA 21-1, NSE a TK, ale neprokázali jsme význam žádného z uvedených onkomarkerů pro PFS. Význam CYFRA 21-1, NSE a TK pro OS byl potvrzen vícerozměrným Coxovým modelem. Rozdíly v OS asociované s hladinami CYFRA 21-1 a TK zřejmě odpovídají obecně negativnímu prognostickému významu těchto onkomarkerů, který popisují i někteří další autoři [311-313]. Význam NSE je zde nutné brát s velkou rezervou, s ohledem na nízký počet pacientů, respektive těch, u kterých byla zjištěna jeho elevace. Velmi zajímavé je srovnání s výsledky předchozích prací zaměřených na význam sérových onkomarkerů u pacientů léčených EGFR-TKI, kde jsme pozorovali signifikantní rozdíly v PFS asociované s hladinami CEA, CYFRA 21-1 a NSE. Oproti tomu, u pacientů léčených pemetrexedem jsme rozdíl v PFS nepozorovali u žádného ze sledovaných onkomarkerů. Tento poznatek by mohl nepřímo svědčit o prediktivním významu zmiňovaných onkomarkerů pro léčbu EGFR-TKI.

Význam předléčebných hladin C-reaktivního proteinu (CRP) na velkém souboru pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených erlotinibem jsme zkoumali v práci „**High serum level of C-reactive protein is associated with worse outcome of patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib (HP13, Příloha, str. 79-85)**“. Jako cut-off byla zvolena limitní hodnota CRP, respektive norma. Prokázali jsme statisticky signifikantně kratší PFS i OS u pacientů s předléčebnou elevací CRP. V subanalýze jsme pak hodnotili význam CRP separátně u pacientů s mutací genu EGFR a pacientů s nádory s *wild-type* EGFR genem. U

pacientů s EGFR mutací jsme nezjistili významné rozdíly v PFS ani v OS. Co se týče pacientů s nádory s *wild-type* EGFR genem, zde jsme prokázali statisticky vysoce signifikantní rozdíl v PFS i OS. Výsledky vícerozměrného Coxova modelu potvrdily předléčebnou hladinu CRP jako významný, nezávislý faktor pro PFS i pro OS. Zatím co prognostický význam CRP u pacientů léčených chemoterapií byl v minulosti popsán v několika studiích, jeho význam u pacientů léčených EGFR-TKI byl zatím studován pouze na relativně malých souborech pacientů [314-318]. Výsledky naší studie provedené na souboru čítajícím 595 pacientů potvrzují předchozí výsledky publikované Pircherem et al. a Masagem et al., jejichž soubory však čítaly pouze 82 a 79 pacientů [317, 318]. V takto malých souborech nebylo možné provedení subanalýzy zaměřené na význam CRP podle mutačního stavu genu EGFR, která byla provedena v naší studii a ukázala, že prognostický význam je zřejmě limitován pouze na skupinu s nemutovaným EGFR, což může být dosti podstatné.

V další práci jsme se zaměřili na význam předléčebných hladin CRP u pacientů léčených chemoterapií, konkrétně pemetrexedem. Výsledky jsme publikovali v práci „**Prognostic role of serum C-reactive protein in patients with advanced-stage NSCLC treated with pemetrexed (HP14, Příloha, str. 86-91)**“, kde jsme prokázali statisticky signifikantně kratší PFS i OS u pacientů s předléčebnou elevací CRP, i zde výsledky Coxova vícerozměrného modelu potvrdily, že předléčebná hladina CRP je významný nezávislý faktor pro PFS i pro OS. Tyto výsledky potvrzují prognostický význam CRP u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených paliativní chemoterapií, které byly v minulosti popisovány jinými autory, jak bylo již zmíněno [314-316]. Tyto studie zahrnovaly pacienty léčené různými cytostatiky, ale zatím nikoliv pemetrexedem [314-316]. U obou našich studií zaměřených na význam CRP je třeba zmínit, že pacienti v době zahájení léčby byli bez jakýchkoliv subjektivních nebo objektivních známek infekce, tedy etiologie elevace CRP byla hodnocena jako paramaligní. Molekulární mechanismy, které by stály za podstatou lékové rezistence v souvislosti s elevací CRP lze najít obtížně a ani to nebylo cílem našich prací. Na základě dostupných dat lze vyslovit určitou hypotézu založenou na tom, že léková rezistence může souviset s rolí interleukinu 6 (IL-6), který patří mezi hlavní induktory produkce CRP v hepatocytech a byl popsán jako jediný prozánětlivý cytokin, který je signifikantně asociován s hladinou CRP u pacientů s NSCLC [319]. Je tedy možné předpokládat, že aktivitu IL-6 lze nepřímou monitorovat právě měřením CRP. Právě IL-6 sehrává významnou roli ve stimulaci růstu a proliferace nádorových buněk cestou signální dráhy IL-6R-JAK-STAT [320-322]. Bylo zjištěno, že aktivace transkripčního faktoru STAT3 v nádorových buňkách vede k rezistenci na EGFR-TKI a rovněž k chemorezistenci [323, 324]. V současné době jsou pro léčbu NSCLC vyvíjeny inhibitory signální dráhy IL-6R-JAK-STAT a právě u těchto preparátů by v budoucnu mohlo mít měření CRP prediktivní význam [325, 326].

Prognostický význam natremie u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených erlotinibem jsme zkoumali v práci „**Predictive and Prognostic Significance of Sodium Levels in Patients with NSCLC Treated by Erlotinib (HP15, Příloha, str. 92-96)**“. S hyponatremií, většinou vznikající v souvislosti se syndromem nepřiměřené sekrece antidiuretického hormonu (SIADH) jsme se setkali u 21,5% pacientů, podobně jako popisovali Bose et. al. [327]. Prognostický význam natremie byl v minulosti studován zejména u pacientů s SCLC. U pacientů s NSCLC byla hyponatremie v několika studiích

popsána jako negativní prognostický faktor, ale existují i práce, které tento význam nepotvrdily [327-331]. Do těchto studií byli většinou zařazováni operovaní pacienti s časným stadiem NSCLC, nebo pacienti s pokročilým stadiem NSCLC léčení paliativní chemoterapií. Dosud však nebyla publikována data ukazující prognostický význam natremie u pacientů léčených EGFR-TKI. V naší práci, zahrnující právě pacienty léčené EGFR-TKI, respektive erlotinibem, jsme prokázali statisticky signifikantně kratší PFS i OS u pacientů s hyponatremií. Výsledky Coxova vícerozměrného modelu pak potvrdily hyponatremii jako významný a nezávislý faktor pro PFS i OS.

Dalším, z běžných biochemických markerů, kterým jsme se věnovali, byla laktát dehydrogenáza (LDH). Oproti předchozím pracem, kde jsme studovali souvislost předléčebných hodnot sérových biomarkerů s prognózou pacientů, zde jsme se zaměřili na dynamiku LDH během léčby erlotinibem. Výsledky studie jsme publikovali v práci „**Change in Serum Lactate Dehydrogenase Is Associated with Outcome of Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib (HP16, Příloha, str. 97-103)**“. V minulosti bylo opakovaně prokázáno, že elevace LDH představuje nepříznivý prognostický faktor u různých nádorových onemocnění, včetně NSCLC [332-338]. Překvapivě však dosud nebyla zkoumána dynamika LDH během léčby, respektive souvislost změny LDH s efektem terapie. V naší práci jsme prokázali korelaci vzestupu LDH během prvního měsíce léčby erlotinibem s přežitím pacientů i léčebnou odpovědí. Pacienti se vzestupem LDH dosahovali statisticky signifikantně kratšího PFS i OS oproti pacientům s poklesem nebo stacionární hladinou LDH. Tyto výsledky ukazují, že dynamiku LDH je možné využít ke sledování efektu léčby erlotinibem a pravděpodobně i jiného typu léčby.

Posledním biochemickým markerem, který jsme studovali v souvislosti s prognózou pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených erlotinibem byl albumin. V práci „**Serum albumin is a strong predictor of survival in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer treated with erlotinib (HP17, Příloha, str. 104-109)**“ jsme prokázali, že nízké hladiny albuminu v séru před zahájením léčby erlotinibem korelují s výrazně kratším přežitím pacientů. Statisticky signifikantní rozdíl byl prokázán pro PFS i OS. Velmi krátké OS u pacientů se sníženou hladinou albuminu ukazuje, že jde o silný prognostický faktor, který determinuje pacienty s velmi nepříznivou prognózou. Podobné výsledky u pacientů léčených gefitinibem publikovali Park et al. [339].

Souhrn – Okruh II

- CEA je významný nezávislý faktor ovlivňující PFS, CYFRA 21-1 je významný nezávislý faktor ovlivňující PFS i OS u pacientů léčených erlotinibem.
- NSE je významný nezávislý faktor ovlivňující PFS, ale nikoliv OS, význam hladin TK nebyl potvrzen.
- CYFRA 21-1, NSE a TK představují významné nezávislé faktory ovlivňující OS u pacientů s léčených pemetrexedem.
- CEA, CYFRA 21-1, NSE, TK, MonoTotal, chromogranin A a squamous-cell carcinoma antigen (SCCA) nemají vliv na PFS u pacientů léčených pemetrexedem.
- Významná asociace elevace CRP a kratšího PFS i OS u pacientů léčených erlotinibem.
- Významná asociace elevace CRP a kratšího PFS i OS u pacientů léčených pemetrexedem.
- Dynamika LDH během prvního měsíce léčby erlotinibem koreluje s přežitím pacientů i léčebnou odpovědí.
- Hypalbuminemie představuje silný prognostický faktor, predikuje krátké PFS a zejména velmi krátké OS.

Okruh III.: Další vybrané aspekty léčby pacientů s pokročilým NSCLC

HP18: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Comparison of EGFR-TKI and chemotherapy in the first-line treatment of advanced EGFR mutation-positive NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 4, p. 425-431. (**Příloha, str. 111-117**)

HP19: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krakorova G., Benesova L., Minarik M.: Retreatment with erlotinib of a patient with metastatic NSCLC harboring EGFR mutation: a case report. *Tumori*, 2014, 100, 3, e70-73. (**Příloha, str. 118-121**)

HP20: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Second line treatment in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): comparison of efficacy of erlotinib and chemotherapy. *Neoplasma*, 2013, 60, 2, p. 129-134. (**Příloha, str. 122-127**)

HP21: Fiala O., Pesek M., Finek J., Svaton M., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Pemetrexed Versus Erlotinib in the Second-line Treatment of Patients with Advanced-stage Non-squamous NSCLC Harboring Wild-type EGFR Gene. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 447-453. (**Příloha, str. 128-134**)

HP22: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Havel L., Hrcniarik M., Salajka F., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Erlotinib in the treatment of advanced squamous cell NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 6, p. 676-682. (**Příloha, str. 135-141**)

HP23: Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Sequential treatment of advanced-stage lung adenocarcinoma harboring wild-type EGFR gene: second-line pemetrexed followed by third-line erlotinib versus the reverse sequence. *Anticancer Res*, 2013, 33, 8, p. 3397-3402. (**Příloha, str. 142-147**)

HP24: Fiala O., Pesek M., Finek J., Krejci J., Ricar J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Skin rash as useful marker of erlotinib efficacy in NSCLC and its impact on clinical practice. *Neoplasma*, 2013, 60, 1, p. 26-32. (**Příloha, str. 148-154**)

HP25: Fiala O., Pesek M., Finek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Topolcan O.: Statins augment efficacy of EGFR-TKIs in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer harbouring KRAS mutation. *Tumor Biol*, 2015, 36, 8, p. 5801-5805. (**Příloha, str. 155-159**)

HP26: Fiala O., Pešek M., Teřl M., Fínek J., Minárik M., Topolčan O.: Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2015, 75, 3, s. 86-94. (**Příloha, str. 160-168**)

Komentář - Okruh III

Publikace zařazené v tomto okruhu jsou zaměřeny na různé aspekty systémové onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Narozdíl od okruhů I a II zde není jednotné téma. Cílem těchto prací je přispět k pochopení některých aktuálních otázek týkajících se dané problematiky. Publikace Okruhu III jsou v plném znění připojeny jako **Příloha (str. 111-168)**.

Problematikou prvoliniové systémové léčby a možnostmi její personalizace na základě vyšetření aktivačních mutací genu EGFR jsme se zabývali v publikaci „**Comparison of EGFR-TKI and chemotherapy in the first-line treatment of advanced EGFR mutation-positive NSCLC (HP18, Příloha, str. 111-117)**“. Zde jsme srovnávali efekt chemoterapie a EGFR-TKI u pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR. Ve skupině pacientů léčených v první linii EGFR-TKI bylo dosaženo signifikantně delšího PFS v porovnání se skupinou pacientů léčených chemoterapií. Oproti tomu, jsme zde neprokázali významný rozdíl v OS mezi oběma skupinami. Hlavním důvodem proč nebyl prokázán významný rozdíl v OS je zřejmě následná léčba, respektive vysoká míra cross-overu. Zatímco všichni pacienti léčení chemoterapií v první linii byli následně léčeni EGFR-TKI v linii druhé, mezi pacienty, kteří byli v první linii léčení EGFR-TKI bylo výrazně méně léčeno ve druhé linii chemoterapií. Významného prodloužení OS nebylo dosaženo ani v klinických studiích fáze III s použitím EGFR-TKI první generace, bylo to rovněž převážně důsledkem vysoké míry cross-overu [91, 92, 95]. Při porovnání výsledků prvoliniové léčby EGFR-TKI u našich pacientů s výsledky zmiňovaných klinických studií je patrné, že naši pacienti dosahovali celkově horších výsledků. Toto bylo způsobeno zejména věkovou strukturou souboru a vyšším podílem pacientů s horším stavem výkonnosti. Poměrně často se stává, že výsledky léčby v podmínkách běžné klinické praxe bývají horší než, jakých bylo dosahováno v podmínkách klinické studie. Jde tedy o zjištění, které není příliš překvapující. Výsledky naší studie dobře dokumentují, že chemoterapie a EGFR-TKI se zásadně liší nejen mechanismem účinku a efektivitou, ale i četností a spektrem nežádoucích účinků. U pacientů léčených chemoterapií jsme se nejčastěji setkávali s projevy hematologické toxicity, nevolností, zvracením, elevací jaterních testů a paresteziemi. Na druhou stranu, u pacientů léčených EGFR-TKI jsme se nejčastěji setkávali s kožním exantémem a průjmem. Tyto nežádoucí účinky je možné poměrně dobře ovlivnit léčbou, případně redukcí dávky.

Efektivitu EGFR-TKI v první linii u pacientů s mutací genu EGFR jsme dokumentovali v kazuistice „**Retreatment with erlotinib of a patient with metastatic NSCLC harboring EGFR mutation: a case report (HP19, Příloha, str. 118-121)**“. Kromě efektu prvoliniové léčby zde popisujeme i dobrý efekt dosažený reindukcí EGFR-TKI ve třetí linii. Protože jde o práci staršího data, nebyla pacientka testována na rezistentní EGFR mutaci T790M, která je většinou, ale ne vždy, zodpovědná za selhání léčby EGFR-TKI u pacientů s aktivační mutací genu EGFR [178-181]. Nicméně, s ohledem na dobrý efekt EGFR-TKI v reindukci lze předpokládat, že selhání prvoliniové léčby zde nebylo způsobeno tímto mechanismem. Faktem je, že s nástupem EGFR-TKI třetí generace, osimertinibu, je podání těchto preparátů

po vzniku rezistence na podkladě EGFR mutace T790M, jednoznačnou volbou [102]. Na druhou stranu, otázka postupu a eventuální možnosti reindukce EGFR-TKI první generace zůstává otevřená v případě, že podkladem vzniklé rezistence není EGFR mutace T790M.

Problematikou druholiniové systémové léčby a srovnáním efektu a tolerance chemoterapie a cílené léčby EGFR-TKI jsme se zabývali v práci „**Second line treatment in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): comparison of efficacy of erlotinib and chemotherapy (HP20, Příloha, str. 122-127)**“. U pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR jsme, podle očekávání, zaznamenali významně lepší výsledky u pacientů léčených erlotinibem. Hlavním cílem naší studie však bylo srovnání chemoterapie a erlotinibu u pacientů bez prokázané EGFR mutace (včetně nevyšetřených pacientů se skvamózním histologickým typem). Efektivita erlotinibu ve druhé linii u pacientů s *wild-type* EGFR genem, případně neprovedeným vyšetřením mutací je relativně nízká, podobně jako u chemoterapie založené na monoterapii docetaxelem, případně pemetrexedem. Studií, které by přímo srovnávaly tyto léčebné modalitativy není mnoho. Výsledky subanalýz randomizovaných klinických studií INTEREST a TITAN ukázaly srovnatelné výsledky léčby EGFR-TKI a chemoterapie ve druhé linii u pacientů s *wild-type* EGFR genem [197, 340]. Oproti tomu však později publikované výsledky randomizovaných klinických studií TAYLOR a DELTA prokázaly lepší výsledky u pacientů léčených chemoterapií, respektive docetaxelem [341, 342]. Faktem je, že rozdíly v PFS ve studiích TAYLOR a DELTA nebyly příliš výrazné a signifikantní rozdíl v OS prokázán nebyl [341, 342]. Výsledky naší retrospektivní studie ukázaly srovnatelný efekt erlotinibu a chemoterapie ve druhé linii, co se týče dosažení kontroly nemoci (disease control rate, DCR) a PFS u pacientů bez mutace genu EGFR. Podobné výsledky jsme později potvrdili v práci „**Pemetrexed Versus Erlotinib in the Second-line Treatment of Patients with Advanced-stage Non-squamous NSCLC Harboring Wild-type EGFR Gene (HP21, Příloha, str. 128-134)**“, kde jsme se zaměřili na srovnání efektu erlotinibu s pemetrexedem ve druhé linii u pacientů s neskvamózním typem NSCLC s *wild-type* EGFR genem (všichni byli vyšetřeni). Zde jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíly v PFS ani OS mezi oběma skupinami pacientů. Podobné výsledky, rovněž z retrospektivní studie, publikovali Zugazagoitia et. al. [343]. Tyto výsledky tak ukazují, že erlotinib ve druhé linii u pacientů s *wild-type* EGFR genem představuje použitelnou alternativu k chemoterapii se srovnatelným efektem, avšak příznivějším bezpečnostním profilem. Zvážení podání erlotinibu ve druhé linii je tedy vhodné zejména u pacientů, kde je podání chemoterapie rizikové, jako jsou pacienti s horším stavem výkonnosti a/nebo vyššího věku. Fakt, který je třeba zmínit je bohužel značně limitovaná efektivita této léčby. Dále je třeba zmínit, že v poslední době došlo k nástupu některých nových preparátů, které svojí efektivitou překonávají erlotinib i dosud užívanou chemoterapii. Na druhou stranu, mnohé z těchto moderních léků stále nejsou úplně dostupné pro rutinní užití v běžné klinické praxi. Navíc, možnosti jejich využití u vysoce rizikových skupin pacientů vyššího věku nebo s horším stavem výkonnosti, jsou limitované. Efektivitu a bezpečnost erlotinibu v podmínkách běžné klinické praxe u pacientů se skvamózním karcinomem jsme studovali v práci „**Erlotinib in the treatment of advanced squamous cell NSCLC (HP22, Příloha, str. 135-141)**“. Jednalo se o retrospektivní studii provedenou na velkém souboru pacientů z několika pneumoonkologických center, čítajícím 375 pacientů. Výsledky této práce

potvrdily bezpečnost a limitovanou efektivitu erlotinibu u takto selektované populace pacientů, srovnatelně s výsledky klinické studie fáze IV publikované Reckem et al. [344]. Prokázali jsme zde významně lepší výsledky u pacientů s výsevem polékového exantému a s lepším stavem výkonnosti.

Dosud málo studovaným tématem v léčbě NSCLC je potenciální efektivita a možnosti využití sekvenční léčby. Tomuto tématu jsme se věnovali v práci „**Sequential treatment of advanced-stage lung adenocarcinoma harboring wild-type EGFR gene: second-line pemetrexed followed by third-line erlotinib versus the reverse sequence (HP23, Příloha, str. 142-147)**“. Zde jsme srovnávali efektivitu sekvence pemetrexed ve druhé linii, erlotinib ve třetí linii oproti sekvenci opačné, tedy erlotinib ve druhé linii, pemetrexed ve třetí linii. Do studie byli zařazeni pacienti s adenokarcinomem s *wild-type* EGFR genem. Přesto, že se jedná o retrospektivní studii na limitovaném souboru pacientů, prokázali jsme zde statisticky významně delší PFS i OS u pacientů léčených sekvencí erlotinib ve druhé linii, pemetrexed ve třetí linii. Za pozornost stojí výrazně patrný trend delšího PFS u pemetrexedu ve třetí linii ve srovnání s druholiniovou léčbou tímto cytostatikem. Srovnatelné výsledky publikovali rovněž Hong et al., ale jednalo se studii provedenou na neselektované populaci pacientů [345]. Ve srovnání s tím, do naší studie jsme zařadili selektovanou skupinu pacientů, za účelem získání homogenní kohorty a zejména abychom se vyvarovali zkreslení výsledků při zahrnutí pacientů s mutací EGFR. Tyto výsledky naznačují, že podání erlotinibu ve druhé linii by mohlo zvyšovat efektivitu pemetrexedu v linii třetí. Takovou hypotézu potvrzují v minulosti publikované výsledky některých experimentálních studií. Bylo popsáno, že erlotinib inhibuje aktivitu thymidilát syntázy v buňkách NSCLC, přičemž je známo, že zvýšená exprese thymidilát syntázy vede k rezistenci k pemetrexedu [346-348].

Významu výsevu kožního exantému u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC léčených erlotinibem jsme se věnovali v práci „**Skin rash as useful marker of erlotinib efficacy in NSCLC and its impact on clinical practice (HP24, Příloha, str. 148-154)**“. Do této studie jsme zařadili pouze pacienty s nádory s *wild-type* EGFR a *wild-type* KRAS geny. Tuto selekci jsme provedli záměrně za účelem eliminace efektu těchto mutací s prediktivním významem, který by mohl zkreslit dosažené výsledky. Prokázali jsme statisticky významně delší PFS a OS a rovněž vyšší četnost dosažení objektivní léčebné odpovědi u pacientů s výsevem polékového kožního exantému, který představuje relativně častý nežádoucí účinky léčby erlotinibem. Podobné výsledky byly publikovány i dalšími autory [87-89, 344]. Výsev exantému pochopitelně nelze předpovědět a je možné jej hodnotit až v průběhu léčby. S ohledem na tento fakt a rovněž relativně krátké PFS v populaci pacientů s *wild-type* EGFR genem, jsme hodnotili prediktivní význam exantému, který vznikl v průběhu prvního měsíce léčby erlotinibem. I zde jsme prokázali statisticky významně delší PFS a OS u pacientů s výsevem exantému. Tyto výsledky tak ukazují, že pacienti bez výsevu exantému v průběhu prvního měsíce léčby erlotinibem představují skupinu s vysokým rizikem časně progresivní onemocnění.

Potenciální protinádorový efekt statinů byl popsán v některých experimentálních studiích [349-351]. Na význam léčby statiny u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC s prokázanou mutací genu KRAS jsme se zaměřili v práci „**Statins augment efficacy of EGFR-TKIs in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer harbouring**

KRAS mutation (HP25, Příloha, str. 155-159)“. Důvodem pro selekci pacientů s mutací genu KRAS byl předpokládaný mechanismus protinádorového účinku statinů [349]. Některé z produktů mevalonátového metabolismu hrají klíčovou roli u nádorových buněk. Mezi takové produkty patří geranylgeranyl pyrofosfát a farnesyl pyrofosfát, které se uplatňují při posttranslační modifikaci různých proteinů včetně proteinů rodiny RAS. Podstata potenciálního protinádorového účinku statinů spočívá v tom, že blokáda mevalonátového metabolismu vyvolaná statiny vede k poklesu syntézy zmiňovaných produktů, což vede k ovlivnění různých buněčných procesů včetně aktivity signální dráhy EGFR [352]. Recentně publikované výsledky klinické studie fáze II neprokázaly význam přidání simvastatinu ke gefitinibu u neselektované populace pacientů s pokročilým stadiem NSCLC [353]. Avšak experimentální práce autorů Chen et al. a Park et al. naznačují, že užití statinů může rušit rezistenci ke gefitinibu u buněk NSCLC s mutací genu KRAS [354, 355]. V naší studii jsme prokázali statisticky signifikantně delší PFS u pacientů léčených kombinací EGFR-TKI a statinu, u OS byl dobře patrný trend delšího přežití u této skupiny pacientů. Tyto výsledky naznačují, že užití statinů u pacientů s mutací genu KRAS může zřejmě ovlivnit aktivitu aberantní aktivaci KRAS a tak zlepšit efekt EGFR-TKI, respektive narušit rezistenci k této léčbě.

Možnosti personalizace systémové onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC jsme sumarizovali v přehledové publikaci „**Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC (HP26, Příloha, str. 160-168)**“.

Souhrn – Okruh III

- Významně delší PFS u pacientů léčených EGFR-TKI oproti pacientům léčeným chemoterapií v první linii ve skupině pacientů s nádory s aktivační mutací genu EGFR, významný rozdíl v OS neprokázán.
- Srovnatelné PFS mezi pacienty léčenými ve druhé linii EGFR-TKI a chemoterapií ve skupině pacientů s nádory s wild-type EGFR genem.
- Delší PFS i OS u pacientů s nádory s wild-type EGFR genem léčených sekvencí erlotinib ve druhé linii, pemetrexed ve třetí linii ve srovnání s opačnou sekvencí.
- Významná asociace výsevu kožního exantému s delším PFS a OS u pacientů léčených erlotinibem.
- Delší PFS při léčbě kombinací EGFR-TKI a statinu u pacientů s nádory s mutací genu KRAS, u OS výrazný trend delšího přežití.

Závěr

Léčba pokročilých stadií NSCLC zaznamenává v průběhu několika posledních let dynamický pokrok, který přináší pacientům významné prodloužení přežití a také zlepšení kvality života. Tohoto pokroku je dosahováno zejména nástupem nových, účinných léků, především z kategorie cílené léčby a v poslední době také imunoterapie. Dalším faktorem, který přispívá k pokroku v léčbě NSCLC je nepochybně i uplatnění některých prediktivních biomarkerů, které lze využít k optimalizaci výběru typu systémové onkologické léčby. Personalizace onkologické léčby založená na využití prediktivních biomarkerů patří mezi hlavní témata současného onkologického výzkumu. Hledání potenciálních prediktivních a prognostických biomarkerů u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC na různé úrovni bylo hlavním cílem velké části předkládaných publikací a jde o hlavní oblast vědeckého zájmu habilitanta (Okruhy I a II). Z nejdůležitějších poznatků vyplývajících z předkládaných prací lze zmínit zejména prediktivní význam aktivačních mutací genu EGFR, omezený na nádory neskvamózní histologie, mutací genu KRAS a význam specifického typu G12C KRAS mutace u pacientů léčených EGFR-TKI, význam exprese TTF-1 u pacientů léčených pemetrexedem, dále pak prognostický význam sérových onkomarkerů (CEA, CYFRA 21-1, NSE) a některých běžně stanovovaných laboratorních markerů (CRP, LDH, natrium, albumin) u pacientů léčených EGFR-TKI nebo chemoterapií. Tyto snadno a relativně levně stanovitelné a všeobecně dobře dostupné biomarkery lze využít zejména k identifikaci pacientů s nepříznivou prognózou a vysokým rizikem časně progresu při léčbě. Tohoto zjištění lze pak využít k optimalizaci plánování restagingu, volby terapie, případně zvažování zařazení vysoce rizikových pacientů do klinických studií. Z nejdůležitějších poznatků vyplývajících z předkládaných prací v Okruhu III, který je tématicky poněkud nesourodý lze zmínit například význam užití EGFR-TKI v první linii u pacientů s nádory s aktivační mutací genu EGFR, srovnatelný a značně limitovaný efekt chemoterapie a EGFR-TKI u pacientů s nádory s *wild-type* EGFR genem, význam kožní toxicity u pacientů léčených erlotinibem, potenciální význam sekvenční léčby erlotinibem a pemetrexedem a příznivý efekt statinů v kombinaci s EGFR-TKI u pacientů s nádory s mutací genu KRAS.

Smyslem publikovaných prací bylo přispět k úrovni poznání v oblasti systémové léčby NSCLC. Některé práce jsou unikátní a přináší předtím nepublikovaná data a hypotézy, jejichž správnost by měla být v budoucnu ověřena jinými autory.

Seznam literatury

1. DUŠEK L., MUŽÍK, J., KUBÁSEK, M., et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [cit. 1.2.2017]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>, ISSN: 1802-8861.
2. DOCKERY, D., W. a TRICHOPOULOS, D. Risk of lung cancer from environmental exposures to tobacco smoke. *Cancer Causes and Control*, 1997, 8, 3, p. 333-345, ISSN: 0957-5243
3. BOFFETTA, P. a NYBERG, F. Contribution of environmental factors to cancer risk. *British Medical Bulletin*, 2003, 68, 1, p. 71-94, ISSN: 0007-1420.
4. HALASOVÁ, E., BASKA, T., KUKURA, F., et al. Lung cancer in relation to occupational and environmental chromium exposure and smoking. *Neoplasma*, 2005, 52, 4, p. 287-91, ISSN: 1338-4317.
5. BOICE, J., D. jr. a LUIN, J., H. Occupational and environmental radiation and cancer. *Cancer Causes and Control*, 1997, 8, 3, p. 309-322, ISSN: 0957-5243.
6. DURHAM, A., L. a ADCOCK, I., M. The relationship between COPD and lung cancer. *Lung Cancer*, 2015, 90, 2, p. 121-127, ISSN: 0169-5002.
7. COTE, M., L., WENZLAFF, A., S., BOCK, CH., et al. Combinations of Cytochrome P-450 Genotypes and Risk of Early-onset Lung Cancer in Caucasians and African Americans: A Population-based Study. *Lung Cancer*, 2007, 55, 3, p. 255-262, ISSN: 0169-5002.
8. TRAVIS, W., D., BRAMBILLA, E., MULLER-HERMELINK, H., K., et al. World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon: IARC Press, 2004. ISBN: 92-832-2418-3.
9. TRAVIS, W., D., BRAMBILLA, E., NOGUCHI, M., et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*, 2011, 6, 2, p. 244-285, ISSN: 1556-0864.
10. HIRSCH, F., R., SPREAFICO, A., NOVELLO, S., et al. The prognostic and predictive role of histology in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2008, 3, 12, p. 1468-1481, ISSN: 1556-0864.
11. SKŘÍČKOVÁ, J., et al. Bronchogenní karcinom. s. 41-68. In: ADAM, Z., VORLÍČEK, J., VANÍČEK, J., ed. Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob. Druhé, aktualizované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2004, 648 s., ISBN: 80-247-0896-5.
12. MULLON, J., J. a OLSON, E., J. Clinical diagnosis and basic evaluation. p. 75-95. In: HANSEN, H., ed. Textbook of Lung Cancer. Second edition. London: Informa UK Ltd; 2008, p. 342, ISBN: 10 0415385105.
13. ERNST, A., EBERHARDT, R., KRASNIK, M., et al. Efficacy of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of hilar lymph nodes for diagnosing and staging cancer. *J Thorac Oncol*, 2009, 4, 8, p. 947-950, ISSN: 1556-0864.
14. YASUFUKU, K., NAKAJIMA, T., MOTOORI, K., et al. Comparison of endobronchial ultrasound, positron emission tomography, and CT for lymph node staging of lung cancer. *Chest*, 2006, 130, 3, p. 710-718, ISSN: 0012-3692.
15. DALE, C., R., MADTES, D., K., FAN, V., S., et al. Navigational bronchoscopy with biopsy versus computed tomography-guided biopsy for the diagnosis of a solitary pulmonary nodule: a cost-consequences analysis. *J Bronchology Interv Pulmonol*, 2012, 19, 4, p. 294-303, ISSN: 1944-6586.
16. GOLDSTRAW, P., ed. Staging manual in thoracic oncology. International Association for the study of Lung Cancer Publication, Editorial Rx Press, Orange Park, Florida, 2009, pp. 157, ISBN: 978-0-9799274-4-7.
17. JEDLIČKA, V. Chirurgická léčba nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC). s. 214-223. In: SKŘÍČKOVÁ, J. a KOLEK, V., ed. Základy moderní pneumoonkologie. Praha: Maxdorf, 2012, 491 s., ISBN 978-80-7345-298-8.
18. De LEYN, P., LARDINOIS, D., Van SCHIL, P., E., et al. ESTS Guidelines for preoperative lymph node staging for non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2007, 32, 1, p. 1-8, ISSN: 1010-7940.
19. ROTH, J., A., FOSSELLA, F., KOMAKI, R., et al. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable non-small-cell-lung cancer. *J Natl Canc Inst*, 1994, 86, 9, p. 673-680, ISSN: 0027-8874.
20. AUPÉRIN, A., Le PÉCHOUX, C., ROLLAND, E., et al. Meta-Analysis of Concomitant Versus Sequential Radiochemotherapy in Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*, 2010, 28, 13, p. 2181-2190, ISSN: 1527-7755.
21. VOJTÍŠEK, R., MUŽÍK, J., ŠLAMPA, P., et al. The impact of PET/CT scanning on the size of target volumes, radiation exposure of organs at risk, TCP and NTCP, in the radiotherapy planning of non-small cell lung cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2014, 19, 3, p. 182-190, ISSN: 1507-1367.
22. MURSHED, H., LIU, H., H., LIAO, Z., et al. Dose and volume reduction for normal lung using intensity-modulated radiotherapy for advanced-stage non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58, 4, p. 1258-1267, ISSN: 0360-3016.

23. LIAO, Z., X., KOMAKI, R., R., THAMES, H., D., jr., et al. Influence of technologic advances on outcomes in patients with unresectable, locally advanced non-small-cell lung cancer receiving concomitant chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 76, 3, p. 775-781, ISSN: 0360-3016.
24. BERMAN, A., T., St. JAMES, S., RENGAN, R. Proton Beam Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Current Clinical Evidence and Future Directions. *Cancers (Basel)*, 2015, 7, 3, p. 1178–1190, ISSN: 2072-6694.
25. EBERHARDT, W., E., E., De RUYSSCHER, D., WEDER, W., et al. 2nd ESMO Consensus Conference in Lung Cancer: locally advanced stage III non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 2015, 26, 8, p. 1573-1588, ISSN: 0923-7534.
26. NAGATA, Y. Stereotactic Body Radiotherapy for Early Stage Lung Cancer. *Cancer Res Treat*, 2013, 45, 3, p. 155-161, ISSN: 1598-2998.
27. ČOUPEK, P. Radioterapie nemalobuněčného karcinomu plic. s. 223-229. In: SKŘIČKOVÁ, J. a KOLEK, V., ed. *Základy moderní pneumoonkologie*. Praha: Maxdorf, 2012, 491 s., ISBN: 978-80-7345-298-8.
28. RUSCH, V., W., ASAMURA, H., WATANABE, H., et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project A Proposal for a New International Lymph Node Map in the Forthcoming Seventh Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. 2009, *J Thorac Oncol*, 4, 5, p 568–577, ISSN: 1556-0864.
29. ZATLOUKAL, P. Chemoterapie karcinomu plic. *Farmakoterapie*, 2005, 1, Suppl. 1, p. 76–80, ISSN: 1803-6597.
30. LASKIN, J., J. a SANDLER, A., B. State of the art in therapy for non-small cell lung cancer. *Cancer Invest*, 2005, 23, 5, p. 427-42, ISSN: 0735-7907.
31. SCHILLER, J., H., HARRINGTON, D., BELANI, C., P., et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2002, 346, 2, p. 92-98, ISSN: 0028-4793.
32. JALAL, S., I., ADEMUYIWA, F., O., HANNA, N., H. The role of maintenance chemotherapy in advanced nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol*, 2009, 21, 2, p. 110-115, ISSN: 1040-8746.
33. OLAUSSEN, K., A., POSTEL-VINAY, S. Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. *Ann Oncol*, 2016, 27, 11, p. 2004–2016, ISSN: 0923-7534.
34. ARRAGADA, R., BERGMAN, B., DUNANT, A., et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2004, 350, 4, p. 351–360, ISSN: 0028-4793.
35. DOUILLARD, J., Y., ROSELL R., De LENA, M., et al. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 2006, 7, 9, p. 719–727, ISSN: 1470-2045.
36. PIGNON, J., P., TRIBODET, H., SCAGLIOTTI, G., V., et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol*, 2008, 26, 21, p. 3552–3559, ISSN: 1527-7755.
37. WINTON, T., LIVINGSTON, R., JOHNSON, D., et al. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2005, 352, 25, p. 2589–2597, ISSN: 0028-4793.
38. TANVETYANON, T., LEE, J., H., FULP, W., et al. Use of Adjuvant Cisplatin-Based Versus Carboplatin-Based Chemotherapy in Non-Small-Cell Lung Cancer: Findings From the Florida Initiative for Quality Cancer Care. *J Oncol Pract*, 2015, 11, 4, p. 332-337, ISSN: 1554-7477.
39. SCHMID-BINDERT, G., ENGEL-RIEDEL, W., RECK, M., et al. A randomized Phase 2 study of pemetrexed in combination with cisplatin or carboplatin as adjuvant chemotherapy in patients with completely resected stage IB or II Non-Small-Cell Lung Cancer. *Lung Cancer*, 2015, 90, 3, p. 397-404, ISSN: 0169-5002.
40. ETTINGER, D., S., ed. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-Small Cell Lung Cancer Version 3.2016*. 2016, [cit. 12.12.2016]. Dostupný z WWW: <http://www.nccn.org>.
41. VYZULA, R., ed. *Modrá kniha České onkologické společnosti. 22. aktualizace*. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2016, 270 s., ISBN: 978-80-86793-40-5.
42. SKÁCEL, Z., ZATLOUKAL, P., ASCHERMANOVÁ, A., et al. Terapie nemalobuněčného bronchogenního karcinomu. s. 127-142. In: PEŠEK, M., ed. *Bronchogenní karcinom*. Praha: Galén, 2002, s. 235, ISBN: 80-7262-115-7.
43. SHEPHERD, F., A., DANCEY, J., RAMLAU, R., et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. *J Clin Oncol*, 2000, 18, 10, p. 2095-2103, ISSN: 1527-7755.
44. SCAGLIOTTI, G., V., PARIKH, P., Von PAWEL, J., et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2008, 26, 21, p. 3543–3551, ISSN: 1527-7755.
45. RODRIGUES-PEREIRA, J., KIM, J., H., MAGALLANES, M. et al. A randomized phase 3 trial comparing pemetrexed/carboplatin and docetaxel/carboplatin as first-line treatment for advanced, nonsquamous non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2011; 6, 11, p. 1907-1914, ISSN: 1556-0864.
46. HANNA, N., SHEPHERD, F., A., FOSSELLA, F., V. et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol*, 2004, 22, 9, p. 1589-1597, ISSN: 1527-7755.

47. CIULEANU, T., BRODOWITZ, T., ZIELINSKI, C. et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non-small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet*. 2009, 374, 9699, p. 1432-1440, ISSN: 0140-6736.
48. PAZ-ARES, L., De MARINIS, F., DEDIU, M. et al. Maintenance therapy with pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care after induction therapy with pemetrexed plus cisplatin for advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (PARAMOUNT): a double-blind, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 2012, 13, 3, p. 247-255, ISSN: 1470-2045.
49. PAZ-ARES, L., De MARINIS, F., DEDIU, M. et al. PARAMOUNT: Final overall survival (OS) results of the phase III study of maintenance pemetrexed (pem) plus best supportive care (BSC) versus placebo (plb) plus BSC immediately following induction treatment with pem plus cisplatin (cis) for advanced nonsquamous (NS) non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol*, 2012, 30, suppl. abstr. LBA7507, ISSN: 1527-7755.
50. OKEN, M., M., CREECH, R., H., TORMEY, D., C., et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*, 1982, 5, 6, p. 649-655, ISSN: 0277-3732.
51. GOMES, F., G., NEDEL, F., ALVES, A., M., et al. Tumor angiogenesis and lymphangiogenesis: tumor/endothelial crosstalk and cellular/microenvironmental signaling mechanisms. *Life Sci*, 2013, 92, 2, p. 101-107, ISSN: 1097-8135.
52. JOHANNESSEN, T., C., WAGNER, M., STRAUME, O., et al. Tumor vasculature: the Achilles' heel of cancer? *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17, 1, p. 7-20, ISSN: 1472-8222.
53. POLET, F. a FERON, O. Endothelial cell metabolism and tumour angiogenesis: glucose and glutamine as essential fuels and lactate as the driving force. *J Intern Med*, 2013, 273, 2, p. 156-165, ISSN: 1365-2796.
54. CLAESSEON-WELSH, L., WELSH, M. VEGFA and tumour angiogenesis. *J Intern Med*, 2013, 273, 2, p. 114-127, ISSN: 1365-2796.
55. AL-HUSEIN, B., ABDALLA, M., TREPTE M., et al. Antiangiogenic therapy for cancer: an update. *Pharmacotherapy*, 2012, 32, 12, p. 1095-1111, ISSN: 0277-0008.
56. SHUMAN MOSS, L., A., JENSEN-TAUBMAN, S., STETLER-STEVENSON, W., G. Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis. *Am J Pathol*, 2012, 181, 6, p. 1895-1899, ISSN: 0002-9440.
57. MIAO, Z., H., FENG, J., M., DING, J. Newly discovered angiogenesis inhibitors and their mechanisms of action. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33, 9, p. 1103-1111, ISSN: 1671-4083.
58. FAGIANI, E., CHRISTOFORI, G. Angiopietins in angiogenesis. *Cancer Lett*, 2013, 328, 1, p. 18-26, ISSN: 0304-3835.
59. KLENER, P. Etiologie a patogeneze nádorového procesu. s. 39-70. In: KLENER, P., ed., *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002, s. 686, ISBN: 80-7262-151-3.
60. KLENER, P. a KLENER, P. jr. Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii. Praha: Grada Publishing, 2010, 209 s., ISBN: 978-80-247-2808-7.
61. OLAYIOYE, M., A., NEVE, R., M., LANE, H., A., et al. ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J*, 2000, 19, 13, p. 3159-3167, ISSN: 0261-4189.
62. CASALINI, P., IORIO, M., V., GALMOZZI, E., et al. Role of HER receptors family in development and differentiation. *J Cell Physiol*, 2004, 200, 3, p. 343-350, ISSN: 1097-4652.
63. ROWINSKY, E., K. Signal events: Cell signal transduction and its inhibition in cancer. *Oncologist*, 2003, 8, Suppl 3, p. 5-17, ISSN: 1083-7159.
64. HYNES, N., E., MacDONALD, G. ErbB receptors and signaling pathways in cancer. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21, 2, p. 177-184, ISSN: 0955-0674.
65. SCAGLIOTTI, G., V., SELVAGGI, G., NOVELLO, S., et al. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2004, 10, 12 Pt 2, p. 4227-4232, ISSN: 1078-0432.
66. KIM, E., S., KHURI, F., R., HERBST, R., S. Epidermal growth factor receptor biology (IMC-C225). *Curr Opin Oncol*, 2001, 13, p. 506-513, ISSN: 1040-8746.
67. DHOMEN, N., S., MARIADASON, J., TEBBUTT, N., et al. Therapeutic targeting of the epidermal growth factor receptor in human cancer. *Crit Rev Oncog*, 2012, 17, 1, p. 31-50, ISSN: 0893-9675.
68. JOHNSTON, J., B., NABARATNAM, S., PITZ, M., W., et al. Targeting the EGFR pathway for cancer therapy. *Curr Med Chem*, 2006, 13, 29, p. 3483-3492, ISSN: 0929-8673.
69. GROSS, M., E., SHAZER, R., L., AGUS, D., B. Targeting the HER-kinase axis in cancer. *Semin Oncol*, 2004, 31, 1 (Suppl 3), p. 9-20, ISSN: 0093-7754.
70. RICHTER, M., ZHANG, H. Receptor-targeted cancer therapy. *DNA Cell Biol*, 2005, 24, 5, p. 271-282, ISSN: 1044-5498.
71. OCANA, A., PANDIELLA, A. Targeting HER receptors in cancer. *Curr Pharm Des*, 2013, 19, 5, p. 808-817, ISSN: 1381-6128.
72. MUKHERJI, S., K. Bevacizumab (Avastin). *AJNR Am J Neuroradiol*, 2010, 31, 2, p. 235-6, ISSN: 0195-6108.

73. SANDLER, A., GRAY, R., PERRY, M., C., et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2006, 355, 24, p. 2542-2550, ISSN: 0028-4793.
74. SANDLER, A., YI, J., DAHHLBERG, S., et al. Treatment outcomes by tumor histology in Eastern Cooperative Group Study E4599 of bevacizumab with paclitaxel/carboplatin for advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2010, 5, 9, p. 1416-1423, ISSN: 1556-0864.
75. RECK, M., Von PAWEL, J., ZATLOUKAL, P., et al. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer: AVAIL. *J Clin Oncol*, 2009, 27, 8, p. 1227-1234, ISSN: 1527-7755.
76. RECK, M., Von PAWEL, J., ZATLOUKAL, P., et al. Overall survival with cisplatin-gemcitabine and bevacizumab or placebo as first-line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer: results from a randomised phase III trial (AVAIL). *Ann Oncol*, 2010, 21, 9, p. 1804-1809, ISSN: 0923-7534.
77. HILBERG, F., ROTH, G., J., KRSSAK M., et al. BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res*, 2008, 68, 12, p. 4774-4782, ISSN: 0099-7013.
78. RECK, M., KAISER, R., MELLEMGAARD, A., et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 2014, 15, 2, p. 143-155, ISSN: 1470-2045.
79. GATZENMEIER, U., PLUZANSKA, A., SZCZESNA, A. Phase III study of erlotinib in combination with cisplatin and gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: the Tarceva Lung Cancer Investigation Trial. *J Clin Oncol*, 2007, 25, 12, p. 1545-1552, ISSN: 1527-7755.
80. HERBST, R., S., PRAGER, D., HERMANN, R., et al. TRIBUTE: A Phase III Trial of Erlotinib Hydrochloride (OSI-774) Combined With Carboplatin and Paclitaxel Chemotherapy in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*, 2005, 23, 25, p. 5892-5899, ISSN: 1527-7755.
81. GIACCONE, G., HERBST, R., S., MANGOLD, C. et al. Gefitinib in Combination With Gemcitabine and Cisplatin in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase III Trial—INTACT 1. *J Clin Oncol*, 2004, 22, 5, p. 777-784, ISSN: 1527-7755.
82. HERBST, R., S., GIACCONE, G., SCHILLER, J., H., et al. Gefitinib in Combination With Paclitaxel and Carboplatin in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase III Trial—INTACT 2. *J Clin Oncol*, 2004, 22, 5, p. 785-794, ISSN: 1527-7755.
83. PIPERDI, B., LING, Y., H., KROOG, G., et al. Schedule-dependent interaction between epidermal growth factor inhibitors (EGFR) and G2/M blocking chemotherapeutic agents (G2/Mb) on human NSCLC cell lines in vitro. *J Clin Oncol*, 2004, 22, 14, suppl. 7028, ISSN: 1527-7755.
84. DAVIES, A., M., HO, C., LARA, P., N., et al. Pharmacodynamic separation of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 2006, 7, 6, p. 385-388, ISSN: 1938-0690.
85. LI, T., LING, Y., H., GOLDMAN, I., D., et al. Schedule-dependent cytotoxic synergism of pemetrexed and erlotinib in human non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2007, 13, 11, p. 3413-3422, ISSN: 1078-0432.
86. HERBST, R., S. a BUNN, P., A., Jr. Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2003, 9, 16, p. 5813-5824, ISSN: 1078-0432.
87. SEGAERT, S., CHIRITESCU, G., LEMMENS, L., et al. Skin toxicities of targeted therapies. *Eur J Cancer*, 2009, 45, Suppl. 1, p. 295-308, ISSN: 1365-2354.
88. WACKER, B., NAGRANI, T., WEINBERG, J., et al. Correlation between development of rash and efficacy in patients treated with the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib in two large phase III studies. *Clin Cancer Res*, 2007, 13, 13, p. 3913-3921, ISSN: 1078-0432.
89. FAEHLING, M., ECKERT, R., KUOM, S., et al. Benefit of erlotinib in patients with non-small-cell lung cancer is related to smoking status, gender, skin rash and radiological response but not to histology and treatment line. *Oncology*. 2010; 78, 3-4, p. 249-258, ISSN: 0030-2414.
90. SHEPHERD, F., A., PEREIRA, J., R., CIULEANU, T., et al. Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2005, 353, 2, p. 123-132, ISSN: 0028-4793.
91. ZHOU, C., WU, Y., L., CHEN, G., et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2011, 12, 8, p. 735-742, ISSN: 1470-2045.
92. ROSELL, R., CARCERENY, E., GERVAIS, R., et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2012, 13, 3, p. 239-246, ISSN: 1470-2045.

93. SETO, T., KATO, T., NISHIO, M., et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open label, randomised, multicentre phase 2 study. *Lancet Oncol*, 2014, 15, 11, p. 1236-1244, ISSN: 1470-2045.
94. CAPPUZZO, F., CIULEANU, T., STELMAKH, L., et al. Erlotinib as maintenance treatment in advanced non-small-cell lung cancer: a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2010, 11, 6, p. 521-529, ISSN: 1470-2045.
95. KIM, E., S., HIRSH, V., MOK, T., et al. Gefitinib versus docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer (INTEREST): a randomised phase III trial. *Lancet Oncol*, 2008, 372, 9652, p. 1809-1818, ISSN: 1470-2045.
96. MOK, T., S., WU, Y., L., THONGPRASERT, S., et al. Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *N Engl J Med*, 2009, 361, 10, p. 947-957, ISSN: 0028-4793.
97. HURWITZ, J., L., SCULLIN, P., CAMPBELL, L. Afatinib treatment in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer: Targets and Therapy*, 2011, 2, p. 47-57, ISSN 1179-2728.
98. LEICA, V., SEQUIST, J., CHIH-HSIN, Y., et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*, 2013, 31, 27, p. 3327-3334, ISSN: 1527-7755.
99. YANG, J., C., WU, Y., L., SCHULER, M., et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*, 2015, 16, 2, p. 141-151, ISSN: 1470-2045.
100. WU, Y., L., ZHOU, C., HU, C., P., et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2014, 15, 2, p. 213-222, ISSN: 1470-2045.
101. PARK, K., TAN, E., H., O'BYRNE, K., et al. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 2016, 17, 5, p. 577-589, ISSN: 1470-2045.
102. McCOACH, C., E. a JIMENO, A. Osimertinib, a third-generation tyrosine kinase inhibitor targeting non-small cell lung cancer with EGFR T790M mutations. *Drugs Today (Barc)*, 2016, 52, 10, p. 561-568, ISSN: 1699-3993.
103. MOK, T., S., WU, Y., L., AHN, M., J., et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2017, 376, 7, p. 629-640, ISSN: 0028-4793.
104. CIARDIELLO, F., BIANCO, R., DAMIANO, V., et al. Antiangiogenic and antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor C225 monoclonal antibody in combination with vascular endothelial growth factor antisense oligonucleotide in human GEO colon cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2000, 6, 9, p. 3739-3747, ISSN: 1078-0432.
105. REYNOLDS, N., A. a WAGSTAFF, A., J. Cetuximab in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Drugs*, 2004, 64, 1, p. 109-118, ISSN: 0012-6667.
106. PIRKER, R., PEREIRA, J., R., Von PAWEL, J., et al. EGFR expression as a predictor of survival for first-line chemotherapy plus cetuximab in patients with advanced non-small-cell lung cancer: analysis of data from the phase 3 FLEX study. *Lancet Oncol*, 2012, 13, 1, p. 33-42, ISSN: 1470-2045.
107. LYNCH, T., J., PATEL, T., DREISBACH, L., et al. Cetuximab and first-line taxane/carboplatin chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: results of the randomized multicenter phase III trial BMS099. *J Clin Oncol*, 2010, 28, 6, p. 911-917, ISSN: 1527-7755.
108. THATCHER, N., HIRSCH, F., R., LUFT, A., V., et al. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2015, 16, 7, p. 763-774, ISSN: 1470-2045.
109. CHRISTENSEN, J., G., BURROWS, J., SALGIA, R. c-Met as a target for human cancer and characterization of inhibitors for therapeutic intervention. *Cancer Lett* 2005, 225, 1, p. 1-26, ISSN: 0304-3835.
110. BANG, Y., J. The potential for crizotinib in non-small cell lung cancer: a perspective review. *Ther Adv Med Oncol*, 2011, 3, 6, p. 279-291, ISSN: 1758-8340.
111. SHAW, A., T., CAMIDGE, D., R., ENGELMAN, J., A., et al. Clinical activity of crizotinib in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring ROS1 gene rearrangement. *J Clin Oncol*, 2012, 30, 15, Suppl. 7508, ISSN: 1527-7755.
112. SHAW, A., T., KIM, D.-W., NAKAGAWA, K., et al. Crizotinib versus Chemotherapy in Advanced ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2013, 368, 25, p. 2385-2394, ISSN: 0028-4793.
113. SOLOMON, B., J., MOK, T., KIM, D.-W., et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2014, 371, 23, p. 2167-2177, ISSN: 0028-4793.
114. DEEKS, E., D. Ceritinib: a Review in ALK-Positive Advanced NSCLC. *Target Oncol*, 2016, 11, 5, p. 693-700, ISSN: 1776-2596.

115. KIM, D-W., MEHRA, R., TAN, D., S., W., et al. Activity and safety of ceritinib in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-1): updated results from the multicentre, open-label, phase 1 trial. *Lancet Oncol*, 2016, 17, 4, p. 452–463, ISSN: 1470-2045.
116. CRINÓ, L., AHN, M-J., De MARINIS, F., et al. Multicenter Phase II Study of Whole- Body and Intracranial Activity With Ceritinib in Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy and Crizotinib: Results From ASCEND-2. *J Clin Oncol*, 2016, 34, 24, p. 2866-2873, ISSN: 1527-7755.
117. SORIA, J., C., TAN, D., S., CHIARI, R., et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*, 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)30123-X. ISSN: 0140-6736.
118. LARKINS, E., BLUMENTHAL, G., M., CHEN, H., et al. Alectinib for the Treatment of Metastatic, ALK-Positive Non-Small Cell Lung Cancer Following Crizotinib. *Clin Cancer Res*, 2016, 22, 21, p. 5171-5176, ISSN: 1078-0432.
119. SHAW, A., T., LEENA, G., SHIRISH, G., et al. Alectinib in ALK-positive, crizotinib-resistant, non-small-cell lung cancer: a single-group, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2016, 17, 2, p. 234–242, ISSN: 1470-2045.
120. BARTUŇKOVÁ, J., PODRAZIL, M., ŠPÍŠEK, R. Imunoterapie v léčbě nádorových onemocnění. *Remedia*, 2015, 25, p. 34–38, ISSN: 0862-8947.
121. OTÁHAL, P. a TRNĚNÝ, M. Současné možnosti imunoterapie nádorových onemocnění. *Klin Onkol*, 2015, 28 (Suppl 3), p. 3S105–3S111, ISSN: 0862-495X.
122. DOMINGUES, D., TURNER, A., SILVA, M., D., et al. Immunotherapy and lung cancer: current developments and novel targeted therapies. *Immunotherapy*, 2014, 6, 11, p. 1221-1235, ISSN: 1750-743X.
123. BANSAL, P., OSMAN, D., GAN, G., N., et al. Recent Advances in Immunotherapy in Metastatic NSCLC. *Front Oncol*, 2016, 6, p. 239, ISSN: 2234-943X.
124. MOUNTZIOS, G., LINARDOU, H., KOSMIDIS, P. Immunotherapy in non-small cell lung cancer: the clinical impact of immune response and targeting. *Ann Transl Med*, 2016, 4, 14, p. 268, ISSN: 2305-5839.
125. WOLCHOCK, J., D., HOOS, A., O'DAY, S., et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: Immune-related response criteria. *Clin Cancer Res*, 2009; 15, 23, p. 7412–7420, ISSN: 1078-0432
126. KLENER, P. a ŠTASTNÝ, M. Posuzování léčebné odpovědi u zhoubných nádorů a potřeba úpravy kritérií pro hodnocení účinnosti imunoterapie. *Remedia*, 2010, 20, p. 332–336, ISSN: 0862-8947.
127. SCHVARTSMAN, G., FERRAROTTO, R., MASSARELLI, E. Checkpoint inhibitors in lung cancer: latest developments and clinical potential. *Ther Adv Med Oncol*, 2016, 8, 6, p. 460-473, ISSN:1758-8340.
128. VANSTEEKISTE, J., F., CHO, B., C., VANAKESA, T., et al. Efficacy of the MAGE-A3 cancer immunotherapeutic as adjuvant therapy in patients with resected MAGE-A3-positive non-small-cell lung cancer (MAGRIT): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2016, 17, 6, p. 822-835, ISSN: 1470-2045.
129. BUTTS, C., SOCINSKI, M., A., MITCHELL, P., L., et al. Tecemotide (L-BLP25) versus placebo after chemoradiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer (START): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2014, 15, 1, p. 59-68. ISSN: 1470-2045.
130. GIACCONE, G., BAZHENOVA, L., A., NEMUNAITIS, J., et al. A phase III study of belagenpumatucel-L, an allogeneic tumour cell vaccine, as maintenance therapy for non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*, 2015, 51, 16, p. 2321-2329, ISSN: 0959-8049.
131. SABADO, R., L., BALAN, S., BHARDWAJ, N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res*, 2017, 27, 1, p. 74-95, ISSN: 1001-0602.
132. BASLER, M. a GROETTRUP, M. Advances in prostate cancer immunotherapies. *Drugs Aging*, 2007, 24, 3, p. 197-221, ISSN: 1170-229X.
133. DEEL, A. Nivolumab in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *J Adv Pract Oncol*, 2016, 7, 2, p. 220-225, ISSN: 2150-0878.
134. BRAHMER, J., RECKAMP, K., L., BAAS, P., et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2015, 373, 2, p. 123-135, ISSN: 0028-4793.
135. BORGHAEI, H., PAZ-ARES, L., HORN, L., et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2015, 373, 17, p. 1627-1639, ISSN: 0028-4793.
136. CARBONE, D., P., RECK, M., PAZ-AREZ, L., et al. First-line nivolumab in stage IV or resurgent non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2017, 376, 25, p. 2415-2426, ISSN: 0028-4793.
137. VACHHANI, P. a CHEN, H. Spotlight on pembrolizumab in non-small cell lung cancer: the evidence to date. *Onco Targets Ther*, 2016, 9, p. 5855-5866, ISSN: 1178-6930.
138. RECK, M., RODRÍGUEZ-ABREU, D., ROBINSON, A., G., et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2016, 375, 19, p. 1823-1833, ISSN: 0028-4793.
139. FEHRENBACHER, L., SPIRA, A., BALLINGER, M., et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*, 2016, 387, 10030, p. 1837-1846, ISSN: 0140-6736.

140. RITTMAYER, A., BARLESI, F., WATERKAMP, D., et al., Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label multicentre randomised controlled trial. *Lancet*, 2017, 389, 10066, p. 255-265, ISSN: 0140-6736.
141. THERASSE, P., ARBUCK, S., G., EISENHAEUER, E., A., et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumours. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92, 3, p. 205-216, ISSN: 0027-8874.
142. AN, S., J., CHEN, Z., H., SU, J., et al. Identification of enriched driver gene alterations in subgroups of non-small cell lung cancer patients based on histology and smoking status. *PLoS One*, 2012, 7, 6, p. e40109, ISSN: 1932-6203.
143. REN, S., KUANG, P., ZHENG, L., et al. Analysis of driver mutations in female non-smoker asian patients with pulmonary adenocarcinoma. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 64, 2, p. 155-160, ISSN: 1559-0283.
144. LI, H., PAN, Y., LI, Y., et al. Frequency of well-identified oncogenic driver mutations in lung adenocarcinoma of smokers varies with histological subtypes and graduated smoking dose. *Lung Cancer*, 2013, 79, 1, p. 8-13, ISSN: 0169-5002.
145. THU, K., L., VUCIC, E., A., CHARI, R., et al. Lung adenocarcinoma of never smokers and smokers harbor differential regions of genetic alteration and exhibit different levels of genomic instability. *PLoS One*, 2012, 7, 3, p. e33003, ISSN: 1932-6203.
146. PESTA, M., KULDA, V., FIALA, O., et al. Prognostic Significance of ERCC1, RRM1 and BRCA1 in Surgically-treated Patients with Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res*, 2012, 32, 11, p. 5003-5010, ISSN: 0250-7005.
147. SPOERKE, J., M., O'BRIEN, C., HUW, L., et al. Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) Pathway Alterations Are Associated with Histologic Subtypes and Are Predictive of Sensitivity to PI3K Inhibitors in Lung Cancer Preclinical Models. *Clin Cancer Res*, 2012, 18, 24, p. 6771-6783, ISSN: 1078-0432.
148. KAWANO, O., SASAKI, H., ENDO, K., et al. PIK3CA mutation status in Japanese lung cancer patients. *Lung Cancer*, 2006, 54, 2, p. 209-215, ISSN: 0169-5002.
149. LEE, S., Y., KIM, M., J., JIN, G., et al. Somatic mutations in epidermal growth factor receptor signaling pathway genes in non-small cell lung cancers. *J Thorac Oncol*, 2010, 5, 11, p. 1734-1740, ISSN: 1556-0864.
150. DEARDEN, S., STEVENS, J., WU, Y., L., et al. Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap). *Ann Oncol*, 2013, 24, 9, p. 2371-2376, ISSN 0923-7534.
151. PETRUŽELKA, L. Pohled na vývoj onkologie ve 3. tisíciletí. *Klinická onkologie*, 2009; 22, 5, p. 11-12, ISSN: 0862-495X.
152. PALÍČKA, V. Personalizovaná medicína – realita, mýtus, fikce. *Cas Lek Cesk*, 2010, 149, 10, p. 460-461, ISSN: 0008-7335.
153. FABÍÁN, P. Role patologa v prediktivní onkologii solidních nádorů. *Cas Lek Cesk*, 2010, 149, 10 p. 462-463, ISSN: 0008-7335.
154. TOPOLČAN, O. a KINKOROVÁ, J. Personalizovaná medicína. *Klin Farmakol Farm*, 2012, 26, 3, p. 121-122, ISSN: 1212-7973.
155. PETRUŽELKA, L. Cílená biologická léčba solidních nádorů. *Vnitř Lék* 2011, 57, p. 740-744, ISSN: 0042-773X.
156. ROCCO, G., MORABITO, A., LEONE, A., et al. Management of non-small cell lung cancer in the era of personalized medicine. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 78, p. 173-179, ISSN:1357-2725.
157. PIRKER, R. a FILIPITS, M. Personalized treatment of advanced non-small-cell lung cancer in routine clinical practice. *Cancer Metastasis Rev*, 2016, 35, 1, p. 141-150, ISSN: 0167-7659.
158. PETRUŽELKA, L. a VOČKA, M. Personalizovaný přístup k farmakoterapii nemalobuněčných plicních karcinomů v éře cílené (terčové) biologické léčby. *Postgraduální medicína*, 2012, 14, 4, p. 314-317, ISSN: 1212-4184.
159. YUN, C., H., BOGGON, T., J., LI, Y., et al. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*, 2007, 11, 3, p. 217-227, ISSN: 1535-6108.
160. HEIGENER, D., F. a RECK, M. Mutations in the epidermal growth factor receptor gene in non-small cell lung cancer: Impact on treatment beyond gefitinib and erlotinib. *Adv Ther*, 2011, 28, 2, p. 126-133, ISSN: 0741-238X.
161. CHAN, S., K., GULLICK, W., J., HILL, M., E. Mutations of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer--search and destroy. *Eur J Cancer*, 2006, 42, 1, p. 17-23, ISSN: 1365-2354.
162. SHIGEMATSU, H., GAZDAR, A., F. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. *Int J Cancer*, 2006, 118, 2, p. 257-262, ISSN: 1097-0215.
163. ZHANG, Z., STIEGLER, A., L., BOGGON, T., J., et al. EGFR-mutated lung cancer: a paradigm of molecular oncology. *Oncotarget*, 2010, 1, 7, p. 497-514, ISSN: 1949-2553.
164. SEQUIST, L., V., BELL, D., W., LYNCH, T., J., et al. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2007, 25, 5, p. 587-595, ISSN: 1527-7755.

165. GANDARA, D., R., LARA, P., N. Jr., MACK, P., et al. Individualizing therapy for non-small-cell lung cancer: a paradigm shift from empiric to integrated decision-making. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10, 3, p. 148-150, ISSN: 1938-0690.
166. WEST, H., LILENBAUM, R., HARPOLE, D., et al. Molecular analysis-based treatment strategies for the management of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2009, 4, Suppl. 2, p. S1029-1039, ISSN: 1556-0864.
167. LYNCH T., J., BELL, D., W., SODELLA, R., et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2004, 350, 21, p. 2129-2139, ISSN: 0028-4793.
168. PAEZ, J., G., JAHNNE, P., A., LEE, J., C., et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004, 304, 5676, p. 1497-1500, ISSN: 0036-8075.
169. GANDHI, J., ZHANG, J., XIE, Y., et al. Alterations in genes of the EGFR signaling pathway and their relationship to EGFR tyrosine kinase inhibitor sensitivity in lung cancer cell lines. *PLoS One*, 2009, 4, 2, p. e4576, ISSN: 1932-6203.
170. EBERHARD, D., A., JOHNSON, B., E., AMLER, L., C., et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol*, 2005, 23, 25, p. 5900-5909, ISSN: 1527-7755.
171. BONANNO, L., SCHIAVON, M., NARDO, G., et al. Prognostic and predictive implications of EGFR mutations, EGFR copy number and KRAS mutations in advanced stage lung adenocarcinoma. *Anticancer Res*, 2010, 30, 12, p. 5121-5128, ISSN: 1791-7530.
172. LIU, H., P., ISAAC W., U, H., D., CHANG, J., W., et al. Prognostic implications of epidermal growth factor receptor and KRAS gene mutations and epidermal growth factor receptor gene copy numbers in patients with surgically resectable non-small cell lung cancer in Taiwan. *J Thorac Oncol*, 2010, 5, 8, p. 1175-1184, ISSN: 1556-0864.
173. ZHU, C., Q., da CUNHA SANTOS, G., DING, K., et al. Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR.21. *J Clin Oncol*, 2008, 26, 26, p. 4268-4275, ISSN: 1527-7755.
174. HIRSCH, F., R., VARELLA-GARCIA, M., BUNN, P., A. Jr., et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: Correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol*, 2003, 21, 20, p. 3798-3807, ISSN: 1527-7755.
175. DOUILLARD, J., Y., SHEPHERD, F., A., HIRSH V., et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol*, 2010, 28, 5, p. 744-752, ISSN: 1527-7755.
176. BRUGGER, W., TRILLER, N., BLASINSKA-MORAWIEC, M. Prospective molecular marker analyses from the phase III placebo-controlled SATURN study of maintenance erlotinib following first-line chemotherapy for advanced NSCLC. *J Clin Oncol*, 2011, 29, 31, p. 4113-4120, ISSN: 1527-7755.
177. PESEK, M., BENESOVA, L., BELSANOVA, B., et al. Dominance of EGFR and insignificant KRAS mutations in prediction of tyrosine-kinase therapy for NSCLC patients stratified by tumor subtype and smoking status. *Anticancer Res*, 2009, 29, 7, p. 2767-2773, ISSN: 1791-7530.
178. PAO, W., MILLER, V., A., POLITI, K., A., et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*, 2005, 2, 3, p. e73, ISSN: 1549-1277.
179. KOBAYASHI, S., BOGGON, T., J., DAYARAM, T., et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2005, 352, 8, p. 786-792, ISSN: 0028-4793.
180. SUDA, K., ONOZATO, R., YATABE, Y. EGFR T790M mutation: a double role in lung cancer cell survival? *J Thorac Oncol*, 2009, 4, 1, p. 1-4, ISSN: 1556-0864.
181. JANCARIKOVA, D., PESEK, M., BENESOVA, L., et al. Acquired resistance of pulmonary adenocarcinoma to initially successful targeted therapy due to EGFR mutation T790M. *Anticancer Res*, 2007, 27, 4, p. 1879-1882, ISSN: 0250-7005.
182. SCHWECHHEIMER, K., HUANG, S., CAVENEE, W., K. EGFR gene amplification--rearrangement in human glioblastomas. *Int J Cancer*, 1995, 62, 2, p. 145-148, ISSN 1097-0215.
183. GARCIA De PALAZZO, I., E., ADAMS, G., P., SUNDARESHAN, P., et al. Expression of mutated epidermal growth factor receptor by non-small cell lung carcinomas. *Cancer Res*, 1993, 53, 14, p. 3217-3220, ISSN: 0008-5472.
184. DOWNWARD, J., YHARDEN, Y., MAYES, E., et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature*, 1984, 307, 5951, p. 521-527, ISSN: 0028-0836.
185. OHTSUKA, K., OHNISHI, H., FURUYASHIKI, G., et al. Clinico-pathological and biological significance of tyrosine kinase domain gene mutations and overexpression of epidermal growth factor receptor for lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*, 2006, 1, 8, p. 787-795, ISSN: 1556-0864.
186. SALOMON, D. S., BRANDT, R., CIARDIELLO, F., et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1995, 19, 3, p. 183-232, ISSN: 1040-8428.

187. ENNIS, B., W., LIPPMAN, M., E., DICKSON, R., B. The EGF receptor system as a target for antitumor therapy. *Cancer Invest*, 1991, 9, 5, p. 553-562, ISSN: 0735-7907.
188. FUKUOKA, M., WU, Y., L., THONGPRASERT, S., et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol*, 2011, 29, 51, p. 2866-2874, ISSN: 1527-7755.
189. CAPPUZZO, F., HIRSCH, F., R., ROSSI, E., et al. Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97, 9, p. 643-655, ISSN: 0027-8874.
190. HIRSCH, F., R., VARELLA-GARCIA, M., CAPPUZZO, F., et al. Combination of EGFR gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Ann Oncol*, 2007, 18, 4, p. 752-760, ISSN: 0923-7534.
191. PARRA, H., S., CAVINA, R., LATTERI, F., et al. Analysis of epidermal growth factor receptor expression as a predictive factor for response to gefitinib ('Iressa', ZD1839) in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2004, 91, 2, p. 208-212, ISSN: 0007-0920.
192. BAILEY, R., KRIS, M., WOLF, M. Gefitinib (Iressa, ZD 1839) monotherapy for pretreated advanced non-small cell lung cancer in IDEAL 1 and 2: tumor response is not clinically relevantly predictable from tumor EGFR membrane staining alone. *Lung Cancer*, 2003, 41, Suppl. 2, p. S71, ISSN 0169-5002.
193. TAKANO, T., OHE, Y., SAKAMOTO, H., et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2005, 23, 28, p. 6829-6837, ISSN: 1527-7755.
194. TRACY, S., MUKOHARA, T., HANSEN, M., et al. Gefitinib induces apoptosis in the EGFR^{L858R} non-small-cell lung cancer cell line H3255. *Cancer Res*, 2004, 64, 20, p. 7241-7244, ISSN: 0008-5472.
195. AMANN, J., KALYANKRISHNA, S., MASSION, P., P., et al. Aberrant epidermal growth factor receptor signaling and enhanced sensitivity to EGFR inhibitors in lung cancer. *Cancer Res*, 2005, 65, 1, p. 226-235, ISSN: 0008-5472.
196. HIRSCH, F., R., VARELLA-GARCIA, M., McCOY, J., et al. Increased epidermal growth factor receptor gene copy number detected by fluorescence in situ hybridization associates with increased sensitivity to gefitinib in patients with bronchioloalveolar carcinoma subtypes: a Southwest Oncology Group Study. *J Clin Oncol*, 2005, 23, 28, p. 6838-6845, ISSN: 1527-7755.
197. DOUILLARD, J., Y., SHEPHERD, F., A., HIRSH, V., et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol*, 2010, 28, 5, p. 744-752, ISSN: 1527-7755.
198. DAHABREH, I., J., LINARDOU, H., SIANNIS, F., et al. Somatic EGFR mutation and gene copy gain as predictive biomarkers for response to tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2010, 16, 1, p. 291-303, ISSN: 1078-0432.
199. MALUMBRES, M. a BARBACID, M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3, 6, p. 459-465, ISSN: 1474-175X.
200. JANCIK, S., DRABEK, J., RAZDIOCH, D., et al. Clinical relevance of KRAS in human cancers. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010, p. 150960, ISSN: 1110-7251.
201. GUERRA, C., MIJIMOLLE, N., DHAWAHIR, A., et al. Tumor induction by an endogenous K-ras oncogene is highly dependent on cellular context. *Cancer Cell*, 2003, 4, 2, p. 111-120, ISSN: 1535-6108.
202. DOWNWARD, J. Role of receptor tyrosine kinases in Gprotein-coupled receptor regulation of Ras: transactivation or parallel pathways? *Biochemical Journal*, 2003, 376, p. 376 (Pt3): e9-e10, ISSN: 0264-6021.
203. SCHUBBERT, S., SHANNON, K., BOLLAG, G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7, 4, p. 295-308, ISSN: 1474-175X.
204. SANTOS, E., MARTIN-ZANCA, D., REDDY E., et al. Malignant activation of a K-RAS oncogene in lung carcinoma but not in normal tissue of the same patient. *Science*, 1984, 223, 4637, p. 661-664, ISSN: 0036-8075.
205. RODENHUIS, S. a SLEBOS, R. J. C. The ras oncogenes in human lung cancer. *Am Rev Respir Dis*, 1990, 142, 6, part 2, p. S27-S30, ISSN: 0003-0805.
206. SUDA, K., TOMIZAVA, K., MITSUDOMI, T. Biological and clinical significance of KRAS mutations in lung cancer: an oncogenic driver that contrasts with EGFR mutation. *Cancer Metastasis Rev*, 2010; 29, 1, p. 49-60, ISSN: 0167-7659.
207. RODENHUIS, S., Van De WETERING, M. L., MOOI, W.J., et al. Mutational activation of the K-RAS oncogene: a possible pathogenetic factor in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med*, 1987, 317, 15, p. 929-935, ISSN: 0028-4793.
208. LOPEZ-CHAVEZ, A., CARTER, C., A., GIACCONE, G. The role of KRAS mutations in resistance to EGFR inhibition in the treatment of cancer. *Curr Opin Investig Druha*, 2009, 10, 12, p. 1305-1314, ISSN: 1472-4472.

209. DING, L., GETZ, G., WHEELER, D., A., et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*, 2008, 455, 7216, p. 1069-1075, ISSN: 0028-0836.
210. SLEBOS, R., J., HRUBAN, R., H., DALESIO, O., et al. Relationship between K-ras oncogene activation and smoking in adenocarcinoma of the human lung. *J Natl Cancer Inst*, 1991, 83, 14, p. 1024-1027, ISSN: 0027-8874.
211. AHRENDT, S., A., DECKER, P., A., ALAWI, E., A., et al. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer*, 2001, 92, 6, p. 1525-1530, ISSN: 1097-0142.
212. LIEVRE, A., BACHET, J. B., Le CORRE, D., et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*, 66, 8, 2006, p. 3992-3995, ISSN: 0008-5472.
213. De ROCK, W., PIESSEVAUX, H., De SCHUTTER, J., et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol*, 2008, 19, 3, p. 508-515, ISSN: 0923-7534.
214. BIBEAU, F., LOPEZ-CRAPEZ, E., Di FIORE, F. Impact of Fc RIIa-Fc RIIIa Polymorphisms and KRAS Mutations on the Clinical Outcome of Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With Cetuximab Plus Irinotecan. *J Clin Oncol*, 2009, 27, 7, p. 1122-1129, ISSN: 1527-7755.
215. MARCHETTI, A., MILELLA, M., FELICIONI, L., et al. Clinical implications of KRAS mutations in lung cancer patients treated with tyrosine kinase inhibitors: an important role for mutations in minor clones., *Neoplasia*, 2009, 11, 10, p. 1084-1092, ISSN: 1522-8002.
216. LIU, H. P., ISAAC WU, H. D., CHANG, J. W., et al. Prognostic implications of epidermal growth factor receptor and KRAS gene mutations and epidermal growth factor receptor gene copy numbers in patients with surgically resectable non-small cell lung cancer in Taiwan. *J Thorac Oncol*, 2010, 5, 8, p. 1175-1184, ISSN: 1556-0864.
217. Al MULLA, F. a MacKENZIE, E. M. Differences in in vitro invasive capacity induced by differences in Ki-Ras protein mutation. *J Pathol*, 2001, 195, 5, p. 549-556, ISSN: 1096-9896.
218. Al MULLA, F., MILNER-WHITE, E. J., GOING, J. J., et al. Structural Differences between valine-12 and aspartate-12 Ras proteins may modify carcinoma aggression. *J Pathol*, 1999, 187, 4, p. 433-438, ISSN: 1096-9896.
219. JANAKIRAMAN, M., VAKIANI, E., ZENG, Z., et al. Genomic and biological characterization of exon 4 KRAS mutations in human cancer. *Cancer Res*, 2010, 70, 14, p. 5901-5911, ISSN: 0008-5472.
220. GARASSINO, M. C., MARABESE, M., RUSCONI, P., et al. Different types of K-Ras mutations could affect drug sensitivity and tumour behaviour in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*, 2011, 22, 1, p. 235-237, ISSN: 0923-7534.
221. BROGGINI, M., MARABESE, M., RUSCONI, P., et al. Sorafenib activity in NSCLC cell lines seems related to a different type of K-RAS mutations. *Ann Oncol*, 2011, 21, Suppl.8, p. 131 (393P), ISSN: 0923-7534.
222. BIRCHMEIER, C., BIRCHMEIER, W., GHERARDI, E., et al. Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4, 12, p. 915-925, ISSN: 1097-6256
223. ENGELMAN, J., A., ZEJNULLAHU, K., MITSUDOMI, T., et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science*, 2007, 316, 5827, p. 1039-1043, ISSN: 0036-8075.
224. BEAN, J., BRENNAN, C., SHIH, J., Y., et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 52, p. 20932-20937, ISSN: 1091-6490.
225. BRABENDER, J., DANENBERG, K., D., METZGER, R., et al. Epidermal growth factor receptor and HER2-neu mRNA expression in non-small cell lung cancer Is correlated with survival. *Clin Cancer Res*, 2001, 7, 7, p. 1850-1855, ISSN: 1078-0432.
226. CAPPUZZO, F., GREGORC, V., ROSSI, E., et al. Gefitinib in pretreated non-small-cell lung cancer (NSCLC): analysis of efficacy and correlation with HER2 and epidermal growth factor receptor expression in locally advanced or metastatic NSCLC. *J Clin Oncol*, 2003, 21, 14, p. 2658-2663, ISSN: 1527-7755.
227. LUDOVINI, V., BIANCONI, F., PISTOLA, L., et al. Phosphoinositide-3-kinase catalytic alpha and KRAS mutations are Important predictors of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2011, 6, 4, p. 707-715, ISSN 1556-0864.
228. FIALA, O., PESEK, M., FINEK, J., et al. Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. *Anticancer Res*, 2013, 33, 4, 1705-1711, ISSN: 0250-7005.
229. SOS, M.L., KOKER, M., WEIR, B.A., et al. PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR. *Cancer Res*, 2009, 69, 8, p. 3256-3261, ISSN: 0008-5472.
230. MOURALI, J., BERNARD, A., LOURENCO, F., et al. Anaplastic lymphoma kinase is a dependence receptor whose proapoptotic functions are activated by caspase cleavage. *Mol Cell Biol*, 2006, 26, 16, p. 6209-6222, ISSN: 0270-7306.
231. MORRIS, S., W., KIRSTEIN, M., N., VALENTINE, M., B., et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodkin's lymphoma. *Science*, 1994, 263, 5151, p. 1281-1284, ISSN: 0036-8075.

232. SHINMURA, K., KAGEYAMA, S., TAO, H. EML4-ALK Psion transcripts, but no NPM-, TPM3-, CLTC-, ATIC-, or TFG-ALK Psion transcripts, in non-small cell lung carcinomas. *Lung cancer*, 2008, 61, p. 163-169, ISSN: 0169-5002.
233. INAMURA, K., TAKEUCHI, K., TOGASHI, Y., et al. EML4-ALK Psion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. *J Thorac Oncol*, 2008, 3, 13-17, ISSN: 1556-0864.
234. SUN, Y., REN, Y., FANG, Z., et al. Lung adenocarcinoma from East Asia never-smokers is a disease largely defined by targetable oncogenic mutant kinases. *J Clin Oncol*, 2010, 28, 4616-4620, ISSN: 0732-183X.
235. TAKAHASHI, T., SONOBE, M., KOBAYASHI, M., et al. Clinicopathologic features of non-small cell lung cancer with EML4-ALK fusion gene. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17, 3, p. 889-897, ISSN: 1068-9265.
236. WU, J., SAVOOJI, J., LIU, D. Second- and third-generation ALK inhibitors for non-small cell lung cancer. *J Hematol Oncol*, 2016, 9, p. 19, ISSN: 1756-8722.
237. DAVIES, K., D., LE, A., T., THEODORO, M., F., et al. Identifying and targeting ROS1 gene fusions in non-small cell lung cancer". *Clin Cancer Res*, 2012, 18, 17, p. 4570-4579, ISSN: 1078-0432.
238. RABIN, M., BIRNBAUM, D., YOUNG, D., et al. Human ros1 and mas1 oncogenes located in regions of chromosome 6 associated with tumor-specific rearrangements. *Oncogene Res*, 1987, 1, 2, p. 169-178, ISSN: 0890-6467.
239. BIRCHMEIER, C., SHARMA, S., WIGLER, M. Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987, 84, 24, p. 9270-9274, ISSN: 0027-8424.
240. BERGETHON, K., SHAW, A., T., OU, S., H., et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol*, 2012, 30, 8, p. 863-870, ISSN: 0732-183X.
241. PIRKER, R., HERTH, F., J., KERR, K., M., et al. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer: results from a European workshop. *J Thorac Oncol*, 2010, 10, 5, p. 1706-1713, ISSN: 1556-0864.
242. RYŠKA, A., PETRUŽELKA, L., SKŘIČKOVÁ, J., et al. Interdisciplinární konsenzus pro prediktivní vyšetřování u nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) – aktualizace 2012. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 2012, 72, 3, p. 168, ISSN: 1213-810X.
243. JOHNSON, D., H., FEHRENBACHER, L., NOVOTNY, W., F., et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with arboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2004, 22, 11, p. 2184-2191, ISSN: 1527-7755.
244. SELVAGGI, G. a SCAGLIOTTI, G., V. Histologic subtype in NSCLC: does it matter? *Oncology (Williston Park)*, 2009, 23, 13, p. 1133-1140, ISSN:0890-9091.
245. WESTERVELD, A., HOEIJMAKERS, J., H., Van DUIN, M., et al. Molecular cloning of a human DNA repair gene. *Nature*, 1984, 310, 5976, p. 425-429, ISSN: 0887-6924.
246. FERRY, K., V., HAMILTON, T., C., JOHNSON, S., W. Increased Nucleotide Excision Repair in Cisplatin-Resistant Ovarian Cancer Cells, Role of ERCC1-XPF. *Biochemical Pharmacology*, 2000, 60, p. 1305-1313, ISSN, 0006-2952.
247. ZHENG, Z., CHEN, T., LI, X., et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med*, 2007, 356, 8, 800- 808, ISSN: 0028-4793.
248. LORD, R., V., BRABENDER, J., GANDARA, D., et al. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2002, 8, p. 2286-2291, ISSN: 1078-0432.
249. OLAUSEN, K., A., DUNANT, A., FOURET, P., et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lungcancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*, 2006, 355, p. 983-991, ISSN: 0028-4793.
250. REYNOLDS, C., OBASAJU, C., SCHELL, M., J., et al. Randomized phase III trial of gemcitabine-based chemotherapy with in situ RRM1 and ERCC1 protein levels for response prediction in nonsmall-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2009, 27, 34, p. 5808-5815, ISSN:0732-183X.
251. ZHENG, Z., CHEN, T., LIX, S., et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 anf ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med*, 2007, 356, p. 800-811, ISSN: 0028-4793.
252. ROSELL, R., DANENBERG, K., D., ALBEROLA, V., et al. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2004, 10, 4, p. 1318-1325, ISSN: 1078-0432.
253. CEPPI, V., VOLANTE, M., SAVIOZZI, S., et al. Squamous cell carcinoma of the lung compared with other histotypes shows higher messenger RNA and protein levels for thymidylate synthase. *Cancer*, 2006, 107, 7, p. 1589-1596, ISSN: 1097-0142.
254. TAKEZAWA, K., OKAMOTO, I., OKAMOTO, W., et al. Thymidylate synhase as a determinant of pemetrexed sensitivity in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2011, 104, 10, p. 1594-1601, ISSN: 0007-0920.
255. ROSELL, R., SKZYPSKI, M., JASSEM, E., et al. BRCA1: A Novel Prognostic Factor in Resected Non-Small-Cell Lung Cancer. *PLoS ONE*, 2, 11, p. e1129, ISSN: 1932-6203.
256. DAMSMA, G., E., ALT, A., BRUECKNER, F., et al. Mechanism of transcriptional stalling at cisplatin-damaged DNA. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14, 12, p. 1127-1133, ISSN: 1545-9993.

257. GACHECHILADZE, M. a ŠKARDA, J. The role of BRCA1 in non-small cell lung cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2012, 156, 3, p. 200-203, ISSN: 1213-8118.
258. AMOS, L., A., Van Den EENT, F., LOWE, J. Structural/functional homology between the bacterial and eukaryotic cytoskeletons. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16, 1, 24-31, ISSN: 0955-0674.
259. BURKHART, C., A., KAVALLARIS, M., HORWITZ, S., B. The role of β -tubulin isotypes in resistance to antimetabolic drugs. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 147, p. 1-9, ISSN: 0304-4165.
260. KAVALLARIS, M., KUO, D., Y., BURKHART, C., A., et al. Taxol-resistant epithelial ovarian tumors are associated with altered expression of specific β -tubulin isotypes. *J Clin Invest*, 1997, 100, 1282-1293, ISSN: 0021-9738.
261. RANGHANATHAN, S., BENATATOS, C., A., COLARUSSO, P., J., et al. Altered beta-tubulin isotype expression in paclitaxel-resistant human prostate carcinoma cells. *Br J Cancer*, 1998, 77, 4, 562-566, ISSN: 0007-0920.
262. LIU, B., STAREN, E., D., IWAMURA, T., et al. Mechanism of taxotere-related drug resistance in pancreatic carcinoma. *J Surg Res*, 2001, 99, 179-186, ISSN: 0022-4804.
263. MONZÓ, M., ROSELL, R., SÁNCHEZ, J., J., et al. Paclitaxel Resistance in Non-Small-Cell Lung cancer Associated With Beta-Tubulin Gene Mutations. *J Clin Oncol*, 1999, 17, 6, p. 1786-1793, ISSN:0732-183X.
264. KAVALLARIS, M. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10, p. 194-204, ISSN: 1474-175X.
265. SEVE, P. a DUMONTET, C. Is class III beta-tubulin a predictive factor in patients receiving tubulin-binding agents? *Lancet Oncol*, 2008, 9, p. 168-175, ISSN: 1470-2045
266. DUMONTET, C., H., ISAAC, S., SOUQUET, P., J., et al. Expression of class III β tubulin in non-small cell lung cancer is correlated with resistance to taxane chemotherapy. *Bull Cancer*, 2005, 92, 2, p. 25-30, ISSN:0007-4551.
267. SEVE, P., MACKEY, J., ISAAC, S., et al. Class III β -tubulin expression in tumor cells predicts response and outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving paclitaxel. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4, p. 2001-2007, ISSN: 1535-7163
268. WU, P., WU, D., LI, L., et al. PD-L1 and survival in solid tumors: a meta-analysis. *PLOS One*, 2015, 10, p. e0131403, ISSN: 1932-6203.
269. WANG, A., WANG, H., Y., LIU, Y., et al. The prognostic value of PD-L1 expression for nonsmall cell lung cancer patients: a meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*, 2015, 41, 4, p. 450–456, ISSN: 0748-7983.
270. BORGHAEI, H., PAZ-ARES, L., HORN, L., et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 373, 17, p. 1627–1639, ISSN: 0028-4793.
271. BESSE, B., JOHNSON, M., JANNE, P., et al. Phase II, single-arm trial (BIRCH) of atezolizumab as first-line or subsequent therapy for locally advanced or metastatic PD-L1-selected nonsmall cell lung cancer. *Eur J Cancer*, 2015, 51, suppl. 3, p. S717–S718, ISSN: 0959-8049.
272. GARON, E., B., RIZVI, N., A., HUI, R., et al. Pembrolizumab for the treatment of nonsmallcell lung cancer. *N Engl J Med*, 2015, 372, 21, p. 2018–2028, ISSN: 0028-4793.
273. VANSTEENKISTE, J., FEHRENBACHER, L., SPIRA, A., et al. Atezolizumab monotherapy vs docetaxel in 2L/3L nonsmall cell lung cancer: Primary analysis for efficacy, safety and predictive biomarkers from a randomized Phase II study (POPLAR). *Eur J Cancer*, 2015, 51, Supplement 3, p. S716–S717, ISSN: 0959-8049.
274. RIZVI, N., A., GARON, E., B., LEIGHL, N., et al. Optimizing PD-L1 as a biomarker of response with pembrolizumab (pembro; MK-3475) as first-line therapy for PD-L1-positive metastatic nonsmall cell lung cancer (NSCLC): Updated data from KEYNOTE-001. *J Clin Oncol*, 2015, 33, (suppl; abstr 8026), ISSN:0732-183X.
275. REBELATTO, M., MISTRY, A., SABALOS, C., et al. Development of a PD-L1 companion diagnostic assay for treatment with MEDI4736 in NSCLC and SCCHN patients. *J Clin Oncol*, 2015, 33 (15 Suppl):8033, ISSN: 0732-183X.
276. BRAHMER, J., RECKAMP, K., L., BAAS, P., et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2015, 373:123–135, ISSN: 0028-4793.
277. GETTINGER, S., N., HORN, L., GANDHI, L., et al. Overall survival and long-term safety of nivolumab (anti-programmed death 1 antibody, BMS-936558, ONO-4538) in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2015; 33, 18, p. 2004–2012, ISSN: 0732-183X.
278. RIZVI, N., A., MAZIERES, J., PLANCHARD, D., et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*, 2015, 16, 3, p. 257–265, ISSN: 1470-2045.
279. PASSIGLIA, F., BRONTE, G., BAZAN, V., et al. PD-L1 expression as predictive biomarker in patients with NSCLC: a pooled analysis. *Oncotarget*, 2016, 7, 15, p. 19738–19747, ISSN: 1949-2553.
280. HIGGS, B., W., ROBBINS, P., B., BLAKE-HASKINS, J., A., et al. High tumoral IFN γ mRNA, PD-L1 protein, and combined IFN γ mRNA/PD-L1 protein expression associates with response to durvalumab (anti-PD-L1) monotherapy in NSCLC patients. *Eur J Cancer*, 2015, 51, suppl. 3, S717-S717, ISSN: 0959-8049.

281. SHUKUYA, T., TAKAHASHI, T., KAIRA, R., et al. Efficacy of gefitinib for non-adenocarcinoma non-small-cell lung cancer patients harboring epidermal growth factor receptor mutations: a pooled analysis of published reports. *Cancer Sci*, 2011, 102, 5:1032-1037, ISSN 1349-7006.
282. YAMAMOTO, H., SHIGENATSU, H., NOMURA, M., et al. PIK3CA mutations and copy number gains in human lung cancers. *Cancer Res*, 2008, 68, 17, p. 6913–1621, ISSN 0008-5472.
283. LUDOVINI, V., BIANCINI, F., PISTOLA, L., et al. Phosphoinositide-3-kinase catalytic alpha and KRAS mutations are important predictors of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2011, 6, p., 707-715, ISSN: 1556-0864.
284. DACIC, S., FLANAGAN, M., CIEPLY, K., et al. Significance of EGFR protein expression and gene amplification in non-small cell lung carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 2006, 125, p. 860-365, ISSN: 0002-9173.
285. MAO, C., QIU, L., X., LIAO, R., Y., et al. KRAS mutations and resistance to EGFR-TKIs treatment in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 22 studies. *Lung Cancer*, 2010, 69, 3, p. 272-278, ISSN: 0169-5002.
286. FELDMAN, G., BEATY, R., HRUBAN, R., H., et al. Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2007, 14, 3, p. 224-232, ISSN: 1868-6974.
287. NEUMANN, J., ZEINDL-EBERHART, E., KIRCHNER, T., et al. Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer. *Pathol Res Pract*, 2009, 205, 12, p. 858-862, ISSN: 0344-0338.
288. PHILLIPS, D., H. Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. *Carcinogenesis*, 2002, 23, 12, p. 1979-2004, ISSN: 0143-3334.
289. HAUGEN, A. a MOLLERUP, S. Etiology of lung cancer. p. 1-9. In: HANSEN, H., ed. *Textbook of Lung Cancer*. Second edition. London: Informa UK Ltd; 2008. pp. 342, ISBN: 10 0415385105.
290. ZHANG, Y., FANG, W., YAN, Y., et al. The efficacy of first-line chemotherapy is associated with KRAS mutation status in patients with advanced non-small cell lung cancer: a metaanalysis. *Med Oncol*, 2015, 32, 3, p. 61, ISSN: 1357-0560.
291. TÍMÁR, J. The clinical relevance of KRAS gene mutation in nonsmall-cell lung cancer. *Curr Opin Oncol*, 2014, 26, 2, p. 138-144, ISSN: 1040-8746.
292. ROBERTS, P., J., STINCHCOMBE, T., E. KRAS mutation: Should we test for it, and does it matter? *J Clin Oncol*, 2013, 31, 8, p. 1112-1121, ISSN:0732-183X.
293. TAN, D., LI, Q., DEEB, G., et al. Thyroid transcription factor-1 expression prevalence and its clinical implications in non-small cell lung cancer: a high-throughput tissue microarray and immunohistochemistry study. *Hum Pathol*, 2003; 34, 6, p. 597-604, ISSN: 0046-8177.
294. MYONG, N., H. Thyroid transcription factor-1 (TTF-1) expression in human lung carcinomas: its prognostic implication and relationship with expressions of p53 and Ki-67 proteins. *J Korean Med Sci*, 2003, 18, p. 494-500, ISSN: 1011-8934.
295. PUGLISI, F., BARDONE, F., DAMANTE, G., et al. Prognostic value of thyroid transcription factor-1 in primary, resected, non-small cell lung carcinoma. *Mod Pathol*, 1999, 12, 3, p. 318–324, ISSN: 0893-3952.
296. HAQUE, A., K., SYED, S., LELE, S., M., et al. Immunohistochemical study of thyroid transcription factor-1 and HER2/neu in non-small cell lung cancer: strong thyroid transcription factor-1 expression predicts better survival. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2002, 10, 2, p. 103-109, ISSN:1541-2016.
297. SAAD, R., S., LIU, Y., L., HAN, H., et al. Prognostic significance of thyroid transcription factor-1 expression in both early-stage conventional adenocarcinoma and bronchioloalveolar carcinoma of the lung. *Hum Pathol*, 2004, 35, 1, p. 3-7, ISSN: 0046-8177.
298. ELSAMANY, S., A., AL-FAYEA, T., M., ALZHRANI, A., S., et al. Thyroid transcription factor-1 expression in advanced non- small cell lung cancer: impact on survival outcome. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16, 7, p. 2987-2991, ISSN, 1513-7368.
299. GRONBERG, B., H., LUND-IVERSEN, M., STROM, E., H., et al. Associations between TS, TTF-1, FR- α , FPGS, and overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer receiving pemetrexed plus carboplatin or gemcitabine plus carboplatin as first-line chemotherapy. *J Thorac Oncol*, 2013, 8, 10, p. 1255-1264, ISSN: 1556-0864.
300. SUN, J., M., HAN, J., AHN, J., S., et al. Significance of Thymidylate Synthase and Thyroid Transcription Factor 1 Expression in Patients with Nonsquamous Non-small Cell Lung Cancer Treated with Pemetrexed-Based Chemotherapy. *J Thorac Oncol*, 2011, 6, 8, p. 1392-1399, ISSN: 1556-0864.
301. OKAMOTO, T., NAKAMURA, T., IKEDA, J., et al. Serum carcinoembryonic antigen as a predictive marker for sensitivity to gefitinib in advanced non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*, 2005, 41, 9, p. 1286-1290, ISSN: 0959-8049.
302. JUNG, M., KIM, S., H., LEE, Y., J., et al. Prognostic and predictive value of CEA and CYFRA 21-1 levels in advanced non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib. *Exp Ther Med*, 2011, 2, 4, p. 685-693, ISSN: 1792-0981.

303. BARLÉSI, F., TCHOUHADJIAN, C., DODDOLI, C., et al. CYFRA 21-1 level predicts survival in non-small-cell lung cancer patients receiving gefitinib as third-line therapy. *Br J Cancer*, 2005, 92, 1, 13-14, ISSN: 0007-0920.
304. CHEN, F., LUO, X., ZHANG, J., et al. Elevated serum levels of TPS and CYFRA 21-1 predict poor prognosis in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Med Oncol*, 2010, 27, p. 950-957, ISSN: 1357-0560.
305. Van ZANDWIJK, N., JASSEM, E., BONFRER, J., M., et al. Serum neuron specific enolase and lactate dehydrogenase as predictors of response to chemotherapy and survival in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol*, 1992, 19, p. 37-43, ISSN: 0093-7754.
306. ZYCH, J., SZTURMOVICZ, M., SAKOWITZ, A., et al. Neuron-specific enolase (NSE) serum level as a prognostic factor in non-small cell lung cancer. *Pneumonol Alergol Pol*, 2002, 70, 5-6, p. 278-283, ISSN: 0867-7077.
307. VINOLAS, N., MOLINA, R., GALAN, M., C., et al. Tumor markers in response monitoring and prognosis of non-small cell lung cancer: preliminary report. *Anticancer Res*, 1998, 18, p. 631-634, ISSN: 0250-7005.
308. WANG, Y., TANG, D., SUI, A., et al. Prognostic significance of NSE mRNA in advanced NSCLC treated with gefitinib. *Clin Transl Oncol*, 2013, 15, 5, p. 384-390, ISSN: 1699-3055.
309. INOMATA, M., HAYASHI, R., YAMAMOTO, A., et al. Plasma neuron-specific enolase level as a prognostic marker in patients with non-small cell lung cancer receiving gefitinib. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3, 4, p. 802-806, ISSN: 1791-2423.
310. SUH, K., J., KEAM, B., KIM, M., et al. Serum Neuron-Specific Enolase Levels Predict the Efficacy of First-Line Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Harboring EGFR Mutations. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17, 4, p. 245-252, ISSN: 1525-7304.
311. LIU, H., GU, X., LV, T., et al. The role of serum carcinoembryonic antigen in predicting responses to chemotherapy and survival in patients with non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Ther*, 2014, 10, 2, p. 239-243, ISSN: 1432-1335.
312. HOLDENRIEDER, S., Von PAWEL, J., DUELL, T., et al. The Clinical relevance of thymidine kinase for the diagnosis, therapy monitoring and prognosis of non-operable lung cancer. *Anticancer Res*, 2010, 30, 5, p. 1855-1862, ISSN: 0250-7005.
313. LI, H., X., LEI, D., S., WANG, X., Q., et al. Serum thymidine kinase 1 is a prognostic and monitoring factor in patients with non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*, 2005, 13, 1, p. 145-149, ISSN: 1021-335X.
314. KOCH, A., FOHLIN, H., SORENSON, S. Prognostic Significance of C-Reactive protein and smoking in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with first-line palliative chemotherapy. *J Thorac Oncol*, 2009, 4, 3, p. 326-332, ISSN: 1556-0864.
315. SCOTT, H., R., McMILLAN, D., C., FORREST, L., M., et al. The systemic inflammatory response weight loss, performance status and survival in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2002, 87, 3, p. 264-267, ISSN: 0007-0920.
316. WILOP, S., CRYSANDT, M., BENDEL, M., et al. Correlation of C-reactive protein with survival and radiographic response to firstline platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Onkologie*, 2008, 31, 12, p. 665-670, ISSN: 1802-4475.
317. PIRCHER, A., ULSPERGER, E., HACK, R., et al. Basic clinical parameters predict gefitinib efficacy in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*, 2011, 31, p. 2949-2955, ISSN: 0250-7005.
318. MASAGO, K., FUJITA, S., TOGASHI, Y., et al. Clinical significance of pretreatment C-reactive protein in patients with advanced nonsquamous, non-small cell lung cancer who received gefitinib. *Oncology*, 2010, 79, 5-6, p. 355-362, ISSN: 0030-2414.
319. McKEOWN, D., J., BROWN, D., J., KELLY, A., et al. The relationship between circulating concentrations of C-reactive protein, inflammatory cytokines and cytokine receptors in patients with non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2004, 91, 12, p. 1993-1995, ISSN: 0007-0920.
320. HAURA, E., B., ZHENG, Z., SONG, L., et al. Activated epidermal growth factor receptor-Stat-3 signaling promotes tumor survival in vivo in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2005, 11, 23, p. 8288-8294, ISSN: 1078-0432.
321. AGGRAWAL, B., B., KUNNUMAKKARA, A., B., HARIKUMAR, K., B., et al. Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship?. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1171, p. 59-76, ISSN: 1749-6632.
322. BROMBERG, J. F., WRZESZCZYNSKA, M., H., DEVGAN, G., et al. Stat3 as an oncogene. *Cell*, 1999, 98:295-303, ISSN: 0092-8674.
323. KIM, S., M., KWON, O., J., HONG, Y., K., et al. Activation of IL-6R/JAK1/STAT3 signaling induces de novo resistance to irreversible EGFR inhibitors in non-small cell lung cancer with T790M resistance mutation. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11, 10, p. 2254-2264, ISSN: 1535-7163.
324. REAL, P., J., SIERRA, A., De JUAN, A., et al. Resistance to chemotherapy via Stat3-dependent overexpression of Bcl-2 in metastatic breast cancer cells. *Oncogene*, 2002, 21, 50, p. 7611-7618, ISSN: 0950-9232.

325. KIM, N., H., KIM, S., K., KIM, D., S., et al. Anti-Proliferative action of IL-6R-targeted antibody tocilizumab for non-small cell lung cancer cells. *Oncol Lett*, 2015, 9, 5, p. 2283-2288, ISSN: 1792-1074.
326. SONG, L., SMITH, M., A., DOSHI, P., et al. Antitumor efficacy of the anti-interleukin-6 (IL-6) antibody siltuximab in mouse xenograft models of lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2014, 9, 7, p. 974-982, ISSN: 1556-0864.
327. BOSE, C., K., DEY, S., MUKHOPADHYAY, A. Hyponatremia of non-small cell lung cancer: Indian experience. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2011, 32, 3, p. 139-142, ISSN, 0970-9290.
328. KOBAYASHI, N., USUI, S., YAMAOKA, M., et al. The Influence of Serum Sodium Concentration on Prognosis in Resected Non-Small Cell Lung Cancer. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 62, 4, p. 338-43, ISSN, 1097-685X.
329. JACOT, W., COLINET, B., BERTRAND, D., et al. Quality of life and comorbidity score as prognostic determinants in non-smallcell lung cancer patients. *Ann Oncol*, 2008, 19, 8, 1458-1464, ISSN: 0923-7534.
330. MUERS, M., F., SHEVLIN, P., BROWN, J. Prognosis in lung cancer: physicians opinions compared with outcome and a predictive model. *Thorax*, 1996, 51, 9, p. 894-902, ISSN: 1468-3296.
331. RAY, P., QUANTIN, X., GREINER, J., et al. Predictive factors of tumor response and prognostic factors of survival during lung cancer chemotherapy. *Cancer Detect Prev*, 1998, 22, 4, p. 293-304, ISSN: 0361-090x.
332. DANNER, B., C., DIDILIS, V., N., WIEMEYER, S., et al. Long-term survival is linked to serum LDH and partly to tumour LDH-5 in NSCLC. *Anticancer Res*, 2010, 30, 4, p. 1347-1351, ISSN0250-7005.
333. HERMES, A., GATZEMEIER, U., WASCHKI, B., et al. Lactate dehydrogenase as prognostic factor in limited and extensive disease stage small cell lung cancer - a retrospective single institution analysis. *Respir Med*, 2010, 104, 12, p. 1937-1942, ISSN: 1176-3450.
334. YI, J., H., KIM, J., H., BAEK, K., K., et al. Elevated LDH and paranasal sinus involvement are risk factors for central nervous system involvement in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol*, 2011, 22, 7, p. 1636-1643, ISSN: 0923-7534.
335. TAS, F., AYKAN, F., ALICI, S., et al. Prognostic factors in pancreatic carcinoma: serum LDH levels predict survival in metastatic disease. *Am J Clin Oncol*, 2001, 24, 6, p. 547-550, ISSN: 0277-3732.
336. FAHMUELLER, Y., N., NAGEL, D., HOFFMANN, R., T., et al. Predictive and prognostic value of circulating nucleosomes and serum biomarkers in patients with metastasized colorectal cancer undergoing Selective Internal Radiation Therapy. *BMC Cancer*, 2012, 12, p. 5, ISSN: 1471-2407.
337. GIRGIS, H., MASUI, O., WHITE, N., M., et al. Lactate dehydrogenase A is a potential prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. *Mol Cancer*, 2014, 13, p. 101, ISSN: 1476-4598.
338. ZHAO, Z., HAN, F., YANG, S., M., et al. The clinicopathologic importance of serum lactic dehydrogenase in patients with gastric cancer. *Dis Markers*, 2014, 2014, p. 140913, ISSN: 0278-0240.
339. PARK MJ, LEE J, HONG JY, CHOI MK, YI JH et al. Prognostic Model to Predict Outcomes in Nonsmall Cell Lung Cancer Patients Treated With Gefitinib as a Salvage Treatment. *Cancer*, 2009, 115, 7, p. 1518-1530, ISSN: 1097-0142.
340. CIULEANU, T., STELMAKH, L., CICENAS, S., et al. Efficacy and safety of erlotinib versus chemotherapy in second-line treatment of patients with advanced, non-small-cell lung cancer with poor prognosis (TITAN): A randomised multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2012, 13, 3, p. 300-308, ISSN: 1470-2045.
341. GARASSINO, M., C., MARTELLI, O., BROGGINI, M., et al. Erlotinib versus docetaxel as second-line treatment of patients with advanced non-small-cell lung cancer and wildtype EGFR tumours (TAILOR): A randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 2013, 14, 10, p. 981-988, ISSN: 1470-2045.
342. KAWAGUCHI, T., ANDO, M., ASAMI, K., et al. Randomized phase III trial of erlotinib versus docetaxel as second- or third-line therapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer: Docetaxel and Erlotinib Lung Cancer Trial (DELTA). *J Clin Oncol*, 2014, 32, 18, p. 1902-1908, ISSN:0732-183X.
343. ZUGAZAGOITIA, J., PUENTE, J., GONZÁLEZ-LARRIBA., et al. Erlotinib versus pemetrexed for pretreated non-squamous nonsmall cell lung cancer patients in clinical practice. *Oncology*, 2013, 84, 5, p. 255-264, ISSN: 0030-2414.
344. RECK M., Van ZANDWIJK N., GRIDELLI C., et al. Erlotinib in advanced non-small cell lung cancer: efficacy and safety findings of the global phase IV Tarceva Lung Cancer Survival Treatment study. *J Thorac Oncol*, 2010, 10, 5, p. 1616-1622, ISSN: 1556-0864.
345. HONG, T., ZHANG, R., CAI, D., et al. Second-line epidermal growth factor receptor inhibitors followed by thirdline pemetrexed or the reverse sequence: A retrospective analysis of 83 Chinese patients with advanced lung adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138, 2, p. 285-291, ISSN: 0171-5216.
346. GIOVANNETTI, E., LEMOS, C., TEKLE, C., et al. Molecular mechanisms underlying the synergistic interaction oferlotinib, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, with the multitargeted antifolate pemetrexed in nonsmall cell lung cancer cells. *Mol Pharmacol*, 2008, 73, 4, p. 1290-1300, ISSN: 0026-895X.
347. GIOVANNETTI, E., MEY, V., NANNIZZI, S., et al. Cellular and pharmacogenetics foundation of synergistic interaction of pemetrexed and gemcitabine in human non-small cell lung cancer cells. *Mol Pharmacol*, 2005, 68, 1, p. 110-118, ISSN: 0026-895X.

348. GOMEZ, H., L., SANTILLANA, S., L., VALLEJOS, C., S., et al. A phase II trial of pemetrexed in advanced breast cancer: Clinical response and association with molecular target expression. *Clin Cancer Res*, 2006, 12, 3, p. 832-838, ISSN: 1078-0432.
349. CHAN, K., K., OZA, A., M., SIU, L., L. The statins as anticancer agents. *Clin Cancer Res*, 2003, 9, 1, p. 10–19, ISSN: 1078-0432.
350. KEYOMARSI, K., SANDOVAL, L., BAND, V., et al. Synchronization of tumor and normal cells from G1 to multiple cell cycles by lovastatin. *Cancer Res*, 1991, 51, 13, p. 3602-3609, ISSN: 0008-5472.
351. WONG, W., W., DIMITROULAKOS, J., MINDEN, M., D., et al. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell: the statin family of drugs as triggers of tumor-specific apoptosis. *Leukemia*, 2002, 16, 4, 508–519, ISSN: 0887-6924.
352. PRUIT, K. a DER, C., J. Ras and Rho regulation of the cell cycle and oncogenesis. *Cancer Lett*, 2001, 171, 1, p. 1–10, ISSN: 0304-3835.
353. HAN, J., Y., LEE, S., H., YOO, N., J., et al. A randomized phase II study of gefitinib plus simvastatin versus gefitinib alone in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2011, 17, 6, p. 1553–1560, ISSN: 1078-0432.
354. CHEN, J., BI, H., HOU, J., et al. Atorvastatin overcomes gefitinib resistance in KRAS mutant human non-small cell lung carcinoma cells. *Cell Death Dis*, 2013, 4, e814, ISSN: 2041-4889.
355. PARK, I., H., KIM, J., Y., JUNG, J., I., et al. Lovastatin overcomes gefitinib resistance in human non-small cell lung cancer cells with K-Ras mutations. *Invest New Drugs*, 2010, 28, 6, 791–799, ISSN: 0167-6997.

Seznam používaných zkratek

A - Alanin

ALK - Anaplastic Lymphoma Kinase, anaplastická lymfomová kináza

AKT - protein kináza B

AUC - Area Under Curve, plocha pod křivkou

APC - antigen presenting cells, antigen prezentující buňky

BCG - Bacillus Calmette–Guérin

BRCA1 - Breast cancer susceptibility gene 1

BSC - Basic supportive care, základní podpůrná léčba

BT3 - β tubulin III

C - Cystein

CEA - Carcinoembryonic Antigen, Karcinoembryonální antigen

CHOPN – Chronická obstrukční plicní nemoc

CIS - Carcinoma in situ, karcinom in situ

CR - Complete Regression, kompletní regrese

CRP - C-reaktivní protein

CT - Computed Tomography, počítačová tomografie

CTLA-4 - Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, cytotoxický antigen asociovaný s T-lymfocyty

ČOS - Česká onkologická společnost

D - Asparagová kyselina

DCR - Disease Control Rate, kontrola onemocnění

DNA - Deoxyribonucleic Acid, deoxyribonukleová kyselina

dTMP - deoxythymidin monofosfát

dUMP - Deoxyuridin monofosfát

EBUS - endobronchiální ultrasonografie

ECOG - Eastern Cooperative Oncology Group

EGF - Epidermal Growth Factor, epidermální růstový faktor

EGFR - Epidermal Growth Factor Receptor, receptor pro epidermální růstový faktor

EGFR-TKI - Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor, tyrozinkinázový inhibitor receptoru pro epidermální růstový faktor

ERCC1 - Excision-repair Cross Complementation Group 1

ErbB - Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog

ESTS - European Society of Thoracic Surgeons, Evropské společnosti hrudních chirurgů

FEV1 - Forced expiratory volume 1, usilovně vydechnutý objem za první sekundu

FGF - Fibroblast Growth Factor, růstový faktor fibroblastů

FISH - Fluorescenční in situ hybridizace

G - Glycin

GPCRs - G Protein–Coupled Receptors, receptory spřažené s G proteinem

GDP - guanosin difosfát

GTP - guanosin trifosfát

Gy - Grey

HB-EGF - Heparin-binding EGF-like Growth Factor
HER - Human Epidermal Growth Factor Related
HRAS - Harvey-RAS
IFN - interferon
IGFR - Insulin-like Growth Factor Receptor
IGRT - Image guided radiotherapy, obrazem řízená radioterapie
IL - interleukin
IMRT - Intensity modulated radiotherapy, radioterapie s modulovanou intenzitou
irRC - immune-related response criteria
KRAS - Kirsten-RAS
LAK (buňky) - Lymphokine-activated killer (cells)
LDH - Laktát dehydrogenáza
M - Metastasis, vzdálené metastázy
MAGE-A3 - Melanomaspecific antigen A3
MAPK - Mitogen-Activated Protein Kinase
MHC - major histocompatibility complex, hlavní histokompatibilní komplex
MLPA - Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MMP - matrix metaloproteinázy
MR - magnetická rezonance
N - Node, postižení lymfatických uzlin
NK (buňky) – Natural killer (cells)
NOS NSCLC - Not Otherwise Specified Non-small Cell Lung Cancer, blíže nespecifikovaný nemalobuněčný karcinom plic
NRAS - Neuroblastoma-RAS
NSCLC - Non-small Cell Lung Cancer, nemalobuněčný karcinom plic
NSE - Neuron Specific Enolase, neuron specifická enoláza
NER - nucleotide excission repair, nukleotidová excizní oprava
OS - Overall Survival, celkové přežití
PD - Progressive Disease, progredující onemocnění
PD-1 - Programmed cell death-1
PD-L1 - Programmed death-ligand 1
PDGF - Platelet-derived Growth Factor, od destiček odvozený růstový faktor
PDGFR - Platelet-derived Growth Factor Receptor, receptor pro od destiček odvozený růstový faktor
PET - Positron Emission Tomography, pozitronová emisní tomografie
PF4 - Platelet factor 4, destičkový faktor 4
PFS - Progression-free Survival, přežití bez progresu
PI3K - Phosphatidylinositol 3-kinase, fosfatidylinositol 3-kináza
PIK3CA - Phosphatidylinositol 3-kinase Catalytic Subunit-alpha, alfa katalytická podjednotka fosfatidylinositol 3-kinázy
PAH - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons polycyklické aromatické uhlovodíky
PR - Partial regression, paciální regrese

Pro-GRP - Pro-Gastrin Releasing Peptid
PS - Performance Status, stav výkonnosti
PTEN - Phosphatase and Tensin Homolog
RECIST - Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
RRM1 - Ribonucleotide Reductase Subunit M1
S – Serin
SABR - Stereotactic ablative radiotherapy, stereotaktické radioterapie
SBRT - Stereotactic body radiation therapy, stereotaktické radioterapie
SCCA - Squamous-cell carcinoma antigen
SCLC - Small-cell Lung Cancer, malobuněčný karcinom plic
SD - Stable disease, stabilizace onemocnění
SIADH - Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion, syndrom nepřiměřené sekrece antidiuretického hormonu
T - Tumor, velikost nádoru
TCR - T-cell receptor, T-buněčný receptor
TGF - Transforming Growth Factor, transformující růstový faktor
TIL - Tumor infiltrating lymphocytes, tumor infiltrující lymfocyty
TIMP - Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, tkáňové inhibitory metaloproteináz
TK - Thymidin kináza
TNF - Tumor Necrosis Factor, tumor nekrotizující faktor
TPA - Tissue Polypeptide Antigen, tkáňový polypeptidový antigen
TPS - Tissue Polypeptide Specific Antigen, tkáňový polypeptidový specifický antigen
TS - Thymidilát syntetáza
TTF 1 - Thyroid transcription factor 1
USG - ultrasonografie
UV - Ultra Violet, ultrafialové (záření)
V - Valin
VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor, vaskulární endotelový růstový faktor
VEGFR - Vascular Endothelial Growth Factor Receptor, receptor pro vaskulární endotelový růstový faktor
VATS - Video-assisted thoracoscopic surgery, videem asistované thorakoskopie
VMS - Videomediastinoskopie
VTS - Videotorakoskopie
WHO - World Health Organization, Světová zdravotnická organizace
3D CRT - 3D conformal radiation therapy, 3D konformní radioterapie

Seznam obrázků

Obrázek 1 – Časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci

Obrázek 2 – Časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci podle pohlaví

Obrázek 3 – Zastoupení jednotlivých klinických stadií karcinomu plic v naší populaci

Obrázek 4 – Mapa hrudní lymfatiky

Obrázek 5 – Schematické znázornění základního principu účinku cytostatik nejčastěji užívaných v léčbě NSCLC

Obrázek 6 – Srovnání OS (A) a DFI (B) pacientů ve studii ANITA

Obrázek 7 – Srovnání přežití pacientů pro kombinace cytostatik III. generace s platinovým derivátem (cisplatina/karboplatina)

Obrázek 8 – Srovnání přežití pacientů léčených docetaxelem a základní podpurnou léčbou ve druhé linii ve studii TAX317

Obrázek 9 – Význam pokračovací udržovací léčby pemetrexedem v první linii. Srovnání PFS od zahájení indukční léčby ve studii PARAMOUNT.

Obrázek 10 – Význam pokračovací udržovací léčby pemetrexedem v první linii. Srovnání OS od zahájení indukční léčby ve studii PARAMOUNT.

Obrázek 11 – Vazba ligandů na receptory rodiny HER (ErbB)

Obrázek 12 – Aktivace EGFR signální dráhy – tvorba heterodimeru – fosforylace TK domény – aktivace dalších signálních drah

Obrázek 13 – Komplexní pohled na EGFR signální dráhy

Obrázek 14 – Srovnání přežití pacientů ve studii E4599

Obrázek 15 – Srovnání PFS pacientů ve studii LUME-Lung 1

Obrázek 16 – Srovnání OS pacientů ve studii LUME-Lung 1 – podskupina pacientů s adenokarcinomem

Obrázek 17 – Inhibice EGFR signální dráhy na úrovni TK domény

Obrázek 18 – Srovnání přežití pacientů ve studii BR.21

Obrázek 19 – Srovnání PFS pacientů ve studii OPTIMAL

Obrázek 20 – Srovnání PFS pacientů ve studii EURTAC

Obrázek 21 – Srovnání PFS pacientů ve studii JO25567

Obrázek 22 – Srovnání PFS pacientů ve studii SATURN u všech pacientů

Obrázek 23 – Srovnání PFS ve studii SATURN u podskupin pacientů – u pacientů s aktivační mutací genu EGFR (A) a u pacientů s *wild-type* EGFR genem (B)

Obrázek 24 – Srovnání přežití pacientů ve studii INTEREST

Obrázek 25 – Srovnání PFS ve studii IPASS u všech pacientů (A), u pacientů s aktivační mutací genu EGFR (B) a u pacientů s *wild-type* EGFR genem (C).

Obrázek 26 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 3 v celém souboru (A) a u pacientů s klasickou aktivační mutací genu EGFR (B)

Obrázek 27 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 3

Obrázek 28 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 3 podle typu aktivační mutace genu EGFR (A - 19 del, B - L858R)

Obrázek 29 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 7
Obrázek 30 – Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 8
Obrázek 31 – Srovnání OS pacientů ve studii Lux-Lung 8
Obrázek 32 – Srovnání PFS pacientů ve studii AURA 3 (A - celá populace, B – pacienti s metastatickým postižením CNS)
Obrázek 33 – Srovnání OS pacientů ve studii FLEX
Obrázek 34 – Srovnání přežití pacientů ve studii BMS099
Obrázek 35 – Srovnání PFS ve studii SQUIRE
Obrázek 36 – Srovnání OS ve studii SQUIRE
Obrázek 37 – Léčebná odpověď u pacientů s přestavbou genu ROS1 léčených crizotinibem
Obrázek 38 – Srovnání PFS pacientů ve studii PROFILE1007
Obrázek 39 – Srovnání změny symptomů nemoci během léčby a kvality života (QoL) pacientů ve studii PROFILE1007
Obrázek 40 – Srovnání PFS a OS pacientů ve studii PROFILE1014
Obrázek 41 – Léčebná odpověď (změna velikosti měřitelných lézí) pacientů ve studii ASCEND-2
Obrázek 42 – Srovnání PFS a OS pacientů ve studii ASCEND-4
Obrázek 43 – Léčebná odpověď pacientů léčených alectinibem v klinické studii fáze II
Obrázek 44 – Možnosti využití mechanismů protinádorové imunity k imunoterapii na různých úrovních
Obrázek 45 – Srovnání PFS pacientů ve studii CheckMate 017
Obrázek 46 – Srovnání OS pacientů ve studii CheckMate 017
Obrázek 47 – Srovnání PFS pacientů ve studii CheckMate 057
Obrázek 48 – Srovnání OS pacientů ve studii CheckMate 057
Obrázek 49 – Srovnání PFS pacientů ve studii KEYNOTE-024
Obrázek 50 – Srovnání OS pacientů ve studii POPLAR
Obrázek 51 – Algoritmus volby systémové onkologické léčby první linie u pacientů s pokročilým NSCLC dle stávajících doporučení ČOS
Obrázek 52 – Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Histopatologická klasifikace NSCLC dle WHO

Tabulka 2 - TNM staging – kritéria pro hodnocení

Tabulka 3 - TNM staging – rozdělení podle klinických stadií

Tabulka 4 - Kritéria hodnocení ECOG PS

Tabulka 5 - Hodnocení objektivní léčebné odpovědi podle RECIS a irRC kritérií

Tabulka 6 - Kombinace pro léčbu první linie u NSCLC

Vědecká činnost autora

Ocenění

První místo v pregraduální sekci na 47. Studentské vědecké konferenci

Fiala O., Brůha J., Vyčítal O., Liška V., Třeška V.: Embolizace portální žíly – experimentální model (Plzeň, 2007)

První místo v chirurgické sekci na 18th European Students' Conference

Fiala O., Brůha J., Vyčítal O., Liška V., Třeška V.: Tumour Necrosis Factor-Alpha Stimulates Liver Regeneration After Partial Portal Vein Ligation – Experimental Study on Porcine Model (Berlin, 2007)

První místo v pregraduální sekci na 48. Studentské vědecké konferenci

Fiala O., Vyčítal O., Brůha J., Liška V., Třeška V.: Intraportální aplikace prasečích mezenchymálních kmenových buněk zvyšuje regeneraci jater po parciální ligaci portální žíly (Plzeň, 2008)

První místo v soutěži o nejlepší poster postgraduálního studenta na 3. pražském mezioborovém onkologickém kolokviu

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Minárik M.: Mutace EGFR u pacientů s NSCLC a jejich význam pro predikci efektu léčby tyrozinkinázovými inhibitory (Praha, 2012)

Cena výboru ČPFS za nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2012

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Benešová L., Minárik M.: EGFR mutace u pacientů s pokročilým NSCLC. Klin Onkol, 2012, 25, 4, s. 267-273. (Praha, 2013)

První místo v soutěži o nejlepší poster postgraduálního studenta na 5. pražském mezioborovém onkologickém kolokviu

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Koncept sekvenční terapie u pacientů s adenokarcinomem plic (Praha, 2014)

Cena výboru ČPFS za 1. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2013

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Belsanová B., Minárik M.: The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. Cancer Genet, 2013, 206, 1-2, p. 26-31. (Praha, 2014)

Cena výboru ČPFS za 3. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2013

Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. *Anticancer Res*, 2013, 33, 4, p. 1705-1711. (Praha, 2014)

Cena výboru ČPFS za 2. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2014

Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: Predictive Role of CEA and CYFRA 21-1 in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2014, 34, 6, p. 3205-3210. (Praha, 2015)

EGTM (European Group on Tumor Markers) Young Scientist Merit Award

Fiala O., Finek J., Buchler T., Matejka V.M., Holubec L., Kulhankova J., Bortlicek Z, Liska V., Topolcan O.: Predictive and prognostic role of serum tumor markers in patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab (Zakopane, Polsko, 2015)

Cena výboru ČPFS za 1. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2015

Fiala O., Pesek M., Finek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Topolcan O.: Statins augment efficacy of EGFR-TKIs in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer harbouring KRAS mutation. *Tumour Biol*, 2015, 36, 8, p. 5801-5805. (Praha, 2016)

Cena výboru ČPFS za 2. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2015

Fiala O., Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Poprach A., Buchler T.: High serum level of C-reactive protein is associated with worse outcome of patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib. *Tumour Biol*, 2015, 36, 12, p. 9215-9222. (Praha, 2016)

Cena výboru ČPFS za 3. nejlepší časopisecké sdělení v kategorii: Jiná sdělení v časopise Studie pneumologica et phthiseologica za rok 2015

Fiala O., Pešek M., Teřl M., Finek J., Minárik M., Topolcan O.: Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým stádiem NSCLC. *Stud Pneumol Phthiseol*, 75, 3, p. 86-94. (Praha, 2016)

Certificate for Highly Cited Research in Cancer Genetics

Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Belsanova B., Minarik M.: The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet*, 2013, 206, 1-2, p. 26-31. (2016)

Publikace s IF

1. Liska V., Treska V., Mirka H., Kobr J., Sykora R., Skalicky T., Sutnar A., Bruha J., **Fiala O.**, Vycital O., Chlumska A., Holubec L., Matejovic M.: Interleukin-6 augments activation of liver regeneration in porcine model of partial portal vein ligation. *Anticancer Res*, 2009, 29, 6, p. 2371-2377. **IF: 1,895**
2. Liska V., Treska V., Skalicky T., Mirka H., Kobr J., Sykora R., Sutnar A., J., **Fiala O.**, Vycital O., Chlumska A., Holubec L. Jr, Matejovic M.: Cytokines and liver regeneration after partial portal vein ligation in porcine experimental model. *Bratisl Lek Listy*, 2009, 110, 8, p. 447-453. **IF: 0,345**
3. Liska V., Treska V., Mirka H., Kobr J., Sykora R., Skalicky T., Sutnar A., Bruha J., **Fiala O.**, Vycital O., Chlumska A., Holubec L., Kormunda S., Trefil L., Racek J., Matejovic M.: Tumour Necrosis Factor-Alpha Stimulates Liver Regeneration in Porcine Model of Partial Portal Vein Ligation. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59, 114, p. 496-500. **IF: 0,928**
4. Holubec L., Liska V., Matejka V.M., **Fiala O.**, Dreslerova J., Mrazkova P., Treska V., Finek J.: The role of cetuximab in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res*, 2012, 32, 9, p. 4007-4011. **IF: 1,895**
5. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Krejci J., Ricar J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Skin rash as useful marker of erlotinib efficacy in NSCLC and its impact on clinical practice. *Neoplasma*, 2013, 60, 1, p. 26-32. **IF: 1,961**
6. Pesta M., Kulda V., **Fiala O.**, Safranek J., Topolcan O., Krakorova G., Cerny R., Pesek M.: Prognostic significance of ERCC1, RRM1 and BRCA1 in surgically-treated patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*, 2012, 32, 11, p. 5003-5010. **IF: 1,895**
7. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Krejci J., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Second line treatment in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): comparison of efficacy of erlotinib and chemotherapy. *Neoplasma*, 2013, 60, 2, p. 129-134. **IF: 1,961**
8. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Belsanova B., Minarik M.: The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet*, 2013, 206, 1-2, p. 26-31. **IF: 2,180**

Práce oceněna Cenou výboru ČPFS za 1. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2013.

Certificate for Highly Cited Research in Cancer Genetics. (2016)

9. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Gene mutations in squamous cell NSCLC: insignificance of EGFR, KRAS and PIK3CA mutations in prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. *Anticancer Res*, 2013, 33, 4, p. 1705-1711. **IF: 1,895**

Práce oceněna Cenou výboru ČPFS za 3. nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2013.
10. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Comparison of EGFR-TKI and chemotherapy in the first-line treatment of advanced EGFR mutation-positive NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 4, p. 425-431. **IF: 1,961**
11. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Sequential treatment of advanced-stage lung adenocarcinoma harboring wild-type EGFR gene: second-line pemetrexed followed by third-line erlotinib versus the reverse sequence. *Anticancer Res*, 2013, 33, 8, p. 3397-3402. **IF: 1,895**
12. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Krejci J., Havel L., Hrnčiarik M., Salajka F., Bortlicek Z., Benesova L., Minarik M.: Erlotinib in the treatment of advanced squamous cell NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 6, p. 676-682. **IF: 1,961**
13. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: The Role of Neuron-specific Enolase (NSE) and Thymidine Kinase (TK) Levels in Prediction of Efficacy of EGFR-TKIs in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2014, 34, 9, p. 5193-5198. **IF: 1,895**
14. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: Predictive Role of CEA and CYFRA 21-1 in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2013, 34, 6, p. 3205-3210. **IF: 1,895**
15. Buchler T., Bortlicek Z., Poprach A., Kubackova K., Kiss I., Zemanova M., **Fiala O.**, Dusek L., Vyzula R., Melichar B.; Czech Renal Cancer Cooperative Group.: Efficacy of everolimus in second- and third-line therapy for metastatic renal cell carcinoma: a registry-based analysis. *Urol Oncol*, 2014, 32, 5, p. 569-575. **IF: 2,921**
16. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Krakorova G., Benesova L., Minarik M.: Retreatment with erlotinib of a patient with metastatic NSCLC harboring EGFR mutation: a case report. *Tumori*, 2014, 100, 3, e70-73. **IF: 1,071**
17. Matejka V.M., Holubec L., Mukensnabl P., Ondic O., Dreslerova J., **Fiala O.**, Mrazkova P., Finek J.: Rare tumors of the heart – angiosarcomas. Two case reports. *Contemp Oncol*, *Contemp Oncol (Pozn)*, 2014, 18. **IF: 0,104**

18. Svaton M., **Fiala O.**, Pesek M., Bruha F., Mukensnabl P., Racek J., Minarik M., Bortlicek Z.: Predictive and Prognostic Significance of Sodium Levels in Patients with NSCLC Treated by Erlotinib. *Anticancer Res*, 2014, 34, 12, p. 7461-7465. **IF: 1,895**
19. Poprach A., Bortlicek Z., Melichar B., Lakomy R., Svoboda M., Kiss I., Zemanova M., **Fiala O.**, Kubackova K., Coufal O., Pavlik T., Dusek L., Vyzula R., Buchler T.: Efficacy of sunitinib in patients with metastatic or unresectable renal cell carcinoma and renal insufficiency. *Eur J Cancer*, 2015, 51, 4, p. 507-513. **IF: 5,417**
20. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Topolcan O.: Statins augment efficacy of EGFR-TKIs in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer harbouring KRAS mutation. *Tumor Biol*, 2015, 36, 8, p. 5801-5805. **IF: 3,650**
21. **Fiala O.**, Finek J., Buchler T., Matejka V.M., Holubec L., Kulhankova J., Bortlicek Z., Liska V., Topolcan O.: The Association of Serum Carcinoembryonic Antigen, Carbohydrate Antigen 19-9, Thymidine Kinase, and Tissue Polypeptide Specific Antigen with Outcomes of Patients with Metastatic Colorectal Cancer Treated with Bevacizumab: a Retrospective Study. *Target Oncol*, 2015, 10, 4, p. 549-555. **IF: 3,438**
22. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Poprach A., Buchler T.: High serum level of C-reactive protein is associated with worse outcome of patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib. *Tumor Biol. Tumour Biol*, 2015, 36, 12, p. 9215-9222. **IF: 3,650**
23. **Fiala O.**, Buchler T., Mohelnikova-Duchonova B., Melichar B., Matejka V.M., Holubec L., Kulhankova J., Bortlicek Z., Bartouskova M., Liska V., Topolcan O., Sedivcova M., Finek J.: G12V and G12A KRAS mutations are associated with poor outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab. *Tumour Biol*, 2016, 37, 5, p. 6823-6830. **IF: 3,650**
24. Buchler T., Bortlicek Z., Poprach A., Pavlik T., Veskrnova V., Honzirkova M., Zemanova M., **Fiala O.**, Kubackova K., Slaby O., Svoboda M., Vyzula R., Dusek L., Melichar B; Czech Renal Cancer Cooperative Group: Outcomes for Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Achieving a Complete Response on Targeted Therapy: A Registry-based Analysis. *Eur Urol*, 2016, 70, 3, p. 469-475. **IF: 14.976**
25. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Racek J., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Sorejs O., Kucera R., Topolcan O.: Serum albumin is a strong predictor of survival in patients with advanced-stage non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Neoplasma*, 2016, 63, 3, p. 471-476. **IF: 1,961**

26. Svaton M., **Fiala O.**, Pesek M., Bortlicek Z., Minarik M., Benesova L., Topolcan O.: The Prognostic Role of KRAS Mutation in Patients with Advanced NSCLC Treated with Second- or Third-line Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 3, p. 1077-1082. **IF: 1,895**
27. Kucera R., Topolcan O., **Fiala O.**, Kinkorova J., Treska V., Zedníková I., Slouka D., Simanek V., Safanda M., Babuska V.: The Role of TPS and TPA in the Diagnostics of Distant Metastases. *Anticancer Res*, 2016, 36, 2, p. 773-777. **IF: 1,895**
28. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Svaton M., Sorejs O., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic Significance of Serum Tumor Markers in Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Pemetrexed-based Chemotherapy. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 461-466. **IF: 1,895**
29. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Svaton M., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Pemetrexed Versus Erlotinib in the Second-line Treatment of Patients with Advanced-stage Non-squamous NSCLC Harboring Wild-type EGFR Gene. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 447-453. **IF: 1,895**
30. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Minarik M., Benesova L., Sorejs O., Svaton M., Bortlicek Z., Kucera R., Topolcan O.: Epidermal Growth Factor Receptor Gene Amplification in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2016, 36, 1, p. 455-460. **IF: 1,895**
31. Kucera R., Smid D., Topolcan O., Karlikova M., **Fiala O.**, Slouka D., Skalicky T., Treska V., Kulda V., Simanek V., Safanda M., Pesta M.: Searching for New Biomarkers and the Use of Multivariate Analysis in Gastric Cancer Diagnostics. *Anticancer Res*, 2016, 36, 4, p. 1967-1971. **IF: 1,895**
32. Windrichova J., Fuchsova R., Kucera R., Topolcan O., **Fiala O.**, Finek J., Slipkova D., Karlikova M., Svobodova J.: Testing of a Novel Cancer Metastatic Multiplex Panel for the Detection of Bone-metastatic Disease - a Pilot Study. *Anticancer Res*, 2016, 36, 4, p. 1973-1978. **IF: 1,895**
33. **Fiala O.**, Pesek M., Finek J., Topolcan O., Racek J., Svaton M., Kucera R., Minarik M., Benesova L., Bortlicek Z., Chloupkova R., Poprach A., Buchler T.: Change in Serum Lactate Dehydrogenase Is Associated with Outcome of Patients with Advanced-stage NSCLC Treated with Erlotinib. *Anticancer Res*, 2016, 36, 5, p. 2459-2465. **IF: 1,895**
34. Poprach A., Lakomy R., Bortlicek Z., Melichar B., Pavlik T., Slaby O., Vyzula R., Svoboda M., Kiss I., Studentova H., Zemanova M., **Fiala O.**, Kubackova K., Dusek L., Hornova J., Buchler T.; Czech Renal Cell Cancer Cooperative Group: Efficacy of Sunitinib in Elderly Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma: Data from Real-World Clinical Practice. *Drugs Aging*, 2016, 33, 9, p. 655-663. **IF: 2,610**

35. **Fiala O.**, Pesek M., Skrickova J., Kolek V., Salajka F., Tomiskova M., Satankova M., Kultan J., Kuliskova J., Svaton M., Hrciarik M., Hejduk K., Chloupkova R., Topolcan O., Hornychova H., Nova M., Ryska A., Finek J.: Thyroid transcription factor 1 expression is associated with outcome of patients with non-squamous non-small cell lung cancer treated with pemetrexed-based chemotherapy. *Tumour Biol*, 2017, 39, 2, 1010428317691186. **IF: 3,650**
36. Windrichova J., Fuchsova R., Kucera R., Topolcan O., **Fiala O.**, Finek J., Slipkova D.: MIC1/GDF15 as a Bone Metastatic Disease Biomarker. *Anticancer Res*, 2017, 37, 3, p. 1501-1505. **IF: 1,895**
37. **Fiala O.**, Hosek P., Pesek M., Finek J., Racek J., Buchler T., Poprach A., Hejduk K., Chloupkova R., Sorejs O., Ecksteinova M., Vitovec M., Cizkova K., Kucera R., Topolcan O.: Prognostic role of serum C-reactive protein in patients with advanced-stage NSCLC treated with pemetrexed. *Neoplasma*, 2017, 64, 4, p. 605-610. **IF: 1,961**
38. **Fiala O.**, Pitule P., Hosek P., Liska V., Sorejs O., Bruha J., Vycital O., Buchler T., Poprach A., Topolcan O., Finek J.: The association of miR-126-3p, miR-126-5p and miR-664-3p expression profiles with outcomes of patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab. *Tumour Biol*, 2017, 39, 7, 1010428317709283. **IF: 3,650**
39. Buchler T., Poprach A., Bortlicek Z., Lakomy R., Chloupková R., Vyzula R., Zemanova M., Kopeckova K., Svoboda M., Slaby O., Kiss I., Studentova H., Hornova J., **Fiala O.**, Kopecky J., Finek J., Dusek L., Melichar B.; Czech Metastatic Renal Cancer Cooperative Group.: Outcomes of Patients With Long-Term Treatment Response to Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy for Metastatic Renal Cell Cancer. *Clin Genitourin Cancer*, 2017, 15, p. e1047-e1053. **IF: 2,535**
40. **Fiala O.**, Hosek P., Pesek M., Finek J., Racek J., Stehlik P., Sorejs O., Minarik M., Benesova L., Celer A., Nemcova I., Kucera R., Topolcan O.: Serum Concentration of Erlotinib and its Correlation with Outcome and Toxicity in Patients with Advanced-stage NSCLC. *Anticancer Res*, 2017, 37, 11, p. 6469-6476. **IF: 1,895**

Publikace v recenzovaných časopisech

1. Šornová T., Hess Z., **Fiala O.**, Solfronk J, Honzík J., Ingeliová E., Bolek L., Podlipný J.: Test depresivity ve virtuální realitě - výsledky pilotní studie, *New EU Magazine of Medicine* 2/2006 (NEUMM)

2. Liška V., Třeška V., Brůha J., **Fiala O.**, Vyčítal O.: Regenerace jater, Vesmír, 86, 2007.
 3. **Fiala O.**: Nové možnosti biologicky cílené léčby pokročilého nemalobuněčného karcinomu plic – sunitinib a sorafenib. Stud Pneumol Phthiseol, 2010, 70, 3, s. 113-116.
 4. **Fiala O.**, Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory. Stud Pneumol Phthiseol, 2011, 71, 3, s. 100-104.
 5. **Fiala O.**, Bittenglová R., Pešek M., Mukenšnabl P.: Amiodaronová plicní toxicita – kazuistika. Stud Pneumol Phthiseol, 2011, 71, 5, s. 214-218.
 6. Holubec L., Matějka V.M., **Fiala O.**, Dresslerová J., Salvét J., Fínek J. Metastazující kolorektální karcinom a cílená inhibice EGFR cetuximabem. Lékařské listy, 2012, 61, 2, s. 32-34.
 7. Pešek M., Mináriková L., Kopečková M., Belšánová B., **Fiala O.**, Minárik M. Možnosti testování DNA mutací a DNA metylační analýzy cirkulující volné nádorové DNA (tumor cell-free DNA) izolované z periferní krve nemocných s NSCLC. Stud Pneumol Phthiseol, 2012, 72, 3, s. 137-141.
 8. **Fiala O.**, Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Benešová L., Minárik M.: EGFR mutace u pacientů s pokročilým NSCLC. Klin Onkol, 2012, 25, 4, s. 267-273.
- Práce oceněna Cenou výboru ČPFS za nejlepší časopisecké sdělení autorů do 35 let za rok 2012.*
9. **Fiala O.**, Pešek M., Fínek J., Benešová L., Tupý R., Minárik M. Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem - kazuistika. Stud Pneumol Phthiseol, 2013, 73, 3, s. 105-108.
 10. Holubec L., Mrázková P., Matějka V.M., **Fiala O.**, Fínek J. Léčba polyneuropatické bolesti u nemocného s generalizovaným, kastročně rezistentním karcinomem prostaty – klinická kazuistika. Klin Onkol, 2013, 26, 5, s. 354-357.
 11. Holubec L., **Fiala O.**, Šefrhansová L., Matějka V.M., Liška V., Třeška V., Fínek J. Nový prediktivní biomarker RAS: křížovatka nebo pokračování v nastolené cestě? Onkologie, 2013, 7, 5, s. 246-247.
 12. Matějka V.M., **Fiala O.**, Tupý R., Holubec L., Fínek J. Chylózní ascites jako závažná komplikace neuroendokrinního tumoru ilea – kazuistika. Klin Onkol, 2013, 26, 5, s. 358-361.

13. **Fiala O.**, Šatánková M., Kultán J., Pešek M., Skříčková J., Kolek V., Fínek J., Zbožínková Z, Bortlíček Z.: Výskyt mutací genu EGFR u pacientů s NSCLC v České republice. *Onkologie*, 2014, 8, 4, s. 156-159.
14. **Fiala O.**, Pešek M., Teřl M., Fínek J., Minárik M., Topolčan O.: Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. *Stud. Pneumol. Phthiseol*, 2015, 75, 3, s. 86-94.
15. Svatoň M., Kulda V., Mukenšnabl P., Topolčan O., Pešek M., Dvořák P., **Fiala O.**, Roušarová M., Hrdá K., Pešta M.: Vliv exprese protein kódujících genů a mikroRNA na riziko relapsu plicních adenokarcinomů stadia 1. *Stud Pneumol Phthiseol*, 2017, 77, 3, s. 93-103.

Kapitoly v monografiích

1. Holubec L., Mrázková P., Matějka V.M., **Fiala O.**, Fínek J.: Sérové a plazmatické biomarkery u kolorektálního karcinomu. In Petruželka L. et al.: *Kolorektální karcinom*. Praha, Farmakon Press, 2013, s. 34-36.
2. Kučera R., **Fiala O.**: Blokátory růstových receptorů. In Kučera R. et al.: *IGF1 aneb od hypotalamu až k buňce*. Brno, Tribun EU, 2016, s. 43-45.