

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Plzni**

**Onkologická a radioterapeutická klinika LF UK v Plzni a FN Plzeň**

**Možnosti predikce efektu léčby EGFR tyrozinkinázovými  
inhibitory u pacientů s pokročilým nemalobuněčným  
karcinomem plic**

**Dizertační práce**

Vědní obor: Onkologie

Plzeň 2014

Autor práce: MUDr. Ondřej Fiala  
Školitel: prof. MUDr. Miloš Pešek, CSc.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou dizertační práci vypracoval samostatně a že jsem všechny použité informační zdroje řádně uvedl v příloženém seznamu literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Plzni dne 31.1.2014

## ABSTRAKT

---

**Úvod:** Cílená léčba nízkomolekulárními tyrozinkinázovými inhibitory (TKI), které blokují aktivaci receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR), představuje jednu z nových, efektivních možností systémové léčby lokoregionálně pokročilého nebo metastatického nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC). Nalezení biomarkerů, které predikují efekt této léčby může vést ke zvýšení efektu léčby a prodloužení přežití pacientů.

**Cíle práce:** Zmapování výskytu aktivačních mutací genu EGFR a mutací genu KRAS a zjištění jejich významu pro predikci efektu léčby EGFR-TKI. Dále pak srovnání účinnosti a bezpečnosti EGFR-TKI a chemoterapie v první linii u pacientů s aktivační mutací genu EGFR.

**Metody:** Celkem 613 pacientů s cytologicky nebo histologicky verifikovaným NSCLC bylo vyšetřeno na aktivační mutace genu EGFR, z toho 448 pacientů bylo rovněž vyšetřeno na mutace genu KRAS. Prvoliniová léčba byla hodnocena u 54 pacientů s aktivační mutací genu EGFR. Přítomnost mutací byla detekována užitím denaturační kapilární elektroforézy a následně ověřena přímým sekvenováním DNA. Přežití pacientů bylo hodnoceno metodikou podle Kaplana-Meiera, srovnání bylo provedeno log-rank testem.

**Výsledky:** Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 73 (11,9%) pacientů, častěji byly zjištěny u pacientů s adenokarcinomem ( $p=0,008$ ), žen ( $p<0,001$ ) a nekuřáků ( $p<0,001$ ). Mutace genu KRAS byly prokázány u 69 (15,3%) pacientů, častěji byly zjištěny u pacientů s adenokarcinomem ( $p=0,004$ ) a kuřáků ( $p=0,006$ ). Medián PFS a OS u pacientů s aktivační mutací genu EGFR činil 7,2 a 14,5 vs. 2,0 a 7,5 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem ( $p<0,001$ ,  $p=0,019$ ). Mezi pacienty s aktivační mutací genu EGFR byl medián PFS a OS u pacientů s adenokarcinomem 10,2 a 17,7 měsíce vs. 4,7 a 6,8 měsíce u pacientů se skvamózním karcinomem ( $p<0,001$ ,  $p=0,009$ ). U pacientů s adenokarcinomem byl prokázán významný rozdíl v PFS ( $p<0,001$ ) i v OS ( $p=0,010$ ) podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR, ale u pacientů se skvamózním karcinomem významný rozdíl v přežití prokázán nebyl ( $p=0,141$ ,  $p=0,749$ ). Nebyl prokázán významný rozdíl v přežití pacientů v souvislosti s typem EGFR mutace. Medián PFS a OS u pacientů s prokázanou mutací genu KRAS činil 1,3 a 3,0 měsíce vs. 2,2 a 7,2 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR a *wild-type* KRAS genem ( $p=0,048$ ,  $p=0,197$ ). Mezi pacienty s mutací genu KRAS činil medián PFS a OS u pacientů s mutací typu G12C 1,1 a 2,3 měsíce vs. 2,3 a 3,0 měsíce u pacientů s mutací typu nonG12C ( $p=0,009$ ,  $p=0,068$ ). Při hodnocení prvoliniové léčby u pacientů s aktivační mutací genu EGFR činil medián PFS a OS u pacientů léčených EGFR-TKI 7,2 a 14,5 vs. 2,5 a 21,4 měsíce u pacientů léčených chemoterapií ( $p<0,001$ ,  $p=0,729$ ). U pacientů léčených chemoterapií jsme se setkali zejména s projevy hematologické toxicity, nevolností, zvracením, elevací jaterních testů a paresteziemi, u pacientů léčených EGFR-TKI jsme se setkali zejména s kožním exantémem a průjmy.

**Závěry:** Aktivační mutace genu EGFR jsme prokázali u 11,9% pacientů, nejčastěji u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků. Mutace genu KRAS jsme prokázali u 15,3% pacientů, nejčastěji u pacientů s adenokarcinomem a kuřáků. Aktivační mutace genu EGFR predikují dobrý efekt léčby EGFR-TKI u pacientů s neskvamózním NSCLC. U pacientů se skvamózním karcinomem jsme prediktivní význam těchto mutací neprokázaly. Testování na aktivační mutace genu EGFR má význam pouze u pacientů s neskvamózním NSCLC. Mutace genu KRAS predikují nízký efekt léčby EGFR-TKI. Prokázali jsme, že prediktivní význam mají pouze mutace typu G12C. Při rozhodování o léčbě EGFR-TKI u pacientů s mutací KRAS je nutné přihlídnout zejména k typu této mutace. U pacientů s mutací KRAS G12C lze předpokládat primární rezistenci k léčbě EGFR-TKI. Prvoliniová léčba EGFR-TKI u pacientů s aktivační mutací genu EGFR je vysoce efektivní, bezpečná a pacienta méně zatěžující v porovnání s chemoterapií.

## ABSTRACT

---

**Introduction:** Targeted therapy with low molecular-weight tyrosine kinase inhibitors (TKI) directed at inhibition of epidermal growth factor receptor (EGFR) is a novel effective option for systemic treatment of locally-advanced or metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). Finding biomarkers that predict the efficacy of targeted treatment may increase the treatment efficacy and also prolong survival of patients.

**Aims:** To assess the frequency of activating EGFR mutations and KRAS mutations in our patients and their role for prediction of EGFR-TKI treatment efficacy. To compare the efficacy and safety of EGFR-TKI and chemotherapy in the first-line treatment of patients harboring activating EGFR mutations.

**Methods:** 613 patients with cytologically or histologically confirmed NSCLC were tested for activating EGFR mutation, of which 448 patients were also tested for KRAS mutation. First-line therapy was evaluated in 54 patients harboring activating EGFR mutations. Mutations were detected using denaturing capillary electrophoresis, and verified by direct DNA sequencing. Survival of patients was assessed using the methodology of Kaplan-Meier, the comparison was calculated using log-rank test.

**Results:** Activating EGFR mutations were detected in 73 (11.9%) patients, more frequently in patients with adenocarcinoma ( $p=0.008$ ), women ( $p<0.001$ ) and non-smokers ( $p<0.001$ ). KRAS mutations were detected in 69 (15.3%) patients, more frequently in patients with adenocarcinoma ( $p=0.004$ ) and smokers ( $p=0.006$ ). Median PFS and OS for patients harboring activating EGFR mutation was 7.2 and 14.5 vs. 2.0 and 7.5 months for patients harboring wild-type EGFR gene ( $p<0.001$ ;  $p=0.019$ ). Among patients harboring activating EGFR mutation, median PFS and OS for those with adenocarcinoma was 10.2 and 17.7 months vs. 4.7 and 6.8 months for those with squamous-cell carcinoma ( $p<0.001$ ,  $p=0.009$ ). The difference in PFS and OS according to presence of activating EGFR mutation was statistically significant for patients with adenocarcinoma ( $p<0.001$ ;  $p=0.010$ ), but not for patients with squamous-cell carcinoma ( $p=0.141$ ,  $p=0.749$ ). We observed no statistically significant difference in survival in relation to the specific type of EGFR mutation. Median PFS and OS for patients with known KRAS mutation was 1.3 and 3.0 months vs. 2.2 and 7.2 months in patients with wild-type EGFR and wild-type KRAS gene ( $p=0.048$ ,  $p=0.197$ ). Among patients harboring KRAS mutation, the median PFS and OS for those with type G12C mutation was 1.1 and 2.3 months vs. 2.3 and 3.0 months for patients with type nonG12C ( $p=0.009$ ,  $p=0.068$ ). When evaluating the first-line treatment in patients harboring activating EGFR mutation, median PFS and OS for patients treated with EGFR-TKI was 7.2 and 14.5 vs. 2.5 and 21.4 months for patients treated with chemotherapy ( $p<0.001$ ,  $p=0.729$ ). Chemotherapy was frequently accompanied with haematologic toxicity, nausea, vomiting, elevation of liver enzymes and parestheses. EGFR-TKI was frequently accompanied with skin rash and diarrhea.

**Conclusion:** Activating EGFR mutations were found in 11.9% patients, more frequently in patients with adenocarcinoma, women and non-smokers. KRAS mutations were found in 15.3% patients, more frequently in patients with adenocarcinoma and smokers. Activating EGFR mutations predict good treatment efficacy of EGFR-TKI in patients with non-squamous NSCLC. KRAS mutations predict low treatment efficacy of EGFR-TKI. The predictive significance has only G12C KRAS mutation type. When deciding on the treatment with EGFR-TKI in patients harboring KRAS mutation, it is necessary to take into account particular type of mutation. Patients harboring G12C KRAS mutation assume primary resistance to EGFR-TKI. First-line treatment with EGFR-TKI in patients harboring activating EGFR mutation is more effective, safe and less burdensome than first-line chemotherapy.

## PŘEDMLUVA

---

Tato práce vznikla na základě spolupráce Kliniky pneumologie a ftizeologie FN a LF UK v Plzni, Onkologické a radioterapeutické kliniky FN a LF UK v Plzni, výzkumného ústavu Genomac v Praze a Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy Univerzity v Brně pod odborným vedením prof. MUDr. Miloše Peška, CSc.

Chtěl bych velice poděkovat školiteli prof. MUDr. Miloši Peškovi, CSc. za jeho trpělivost, podporu a odborné vedení v průběhu celého doktorandského studia, prof. MUDr. Jindřichu Fínkovi, Ph.D., MHA za podporu vědecké činnosti, RNDr. Marku Minárikovi, Ph.D. a RNDr. Lucii Benešové, Ph.D. za realizaci molekulárně-genetických vyšetření vzorků, Mgr. Zbyňku Bortlíčkovi za precizní statistické zpracování dat, paní Zdeně Čermákové a MUDr. Zuzaně Jankové za pomoc při tiskové korektuře textu a v neposlední řadě mé rodině za podporu v průběhu celého doktorandského studia.

# OBSAH

---

<b>SEZNAM POUŽÍVANÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b>	9
<b>ÚVOD</b>	11
<b>CÍL PRÁCE</b>	12
<b>POPIS SOUČASNÉHO STAVU PROBLEMATIKY</b>	13
<b>1 Úvod do problematiky NSCLC</b>	13
1.1 Epidemiologie karcinomu plic	13
1.2 Etiologie	13
1.3 Histopatologická klasifikace plicních karcinomů	13
1.4 Diagnostika	15
1.5 Chirurgická léčba a radioterapie u NSCLC	17
1.6 Význam systémové léčby NSCLC	18
1.7 Personalizovaná onkologická léčba a biomarkery	18
<b>2 Možnosti systémové léčby NSCLC</b>	20
2.1 Postavení systémové léčby u NSCLC a vymezení základních pojmů	20
2.1.1 Systémová léčba jako součást multimodální léčby NSCLC	20
2.1.2 Systémová léčba jako samostatná léčebná modalita u NSCLC	20
2.1.2.1 Udržovací léčba ( <i>maintenance</i> )	20
2.1.2.1.1 Pokračující udržovací léčba ( <i>continuation maintenance</i> )	20
2.1.2.1.2 Konsolidační udržovací léčba ( <i>switch maintenance</i> )	21
2.2 Chemoterapie v léčbě NSCLC	21
2.2.2 Neoadjuvantní chemoterapie	21
2.2.3 Adjuvantní chemoterapie	21
2.2.4 Paliativní chemoterapie	22
2.2.4.1 Léčba první linie	23
2.2.4.2 Léčba druhé linie	24
2.2.4.3 Léčba třetí linie a v dalších liniích	24
2.3 Cílená léčba NSCLC	25
2.3.1 Hlavní terče cílené léčby u NSCLC	25
2.3.1.1 Angiogeneze	25
2.3.1.2 Receptor pro epidermální růstový faktor	27

2.3.2	Preparáty cílené léčby užívané u NSCLC	30
2.3.2.1	Bevacizumab	30
2.3.2.2	EGFR tyrozinkinázové inhibitory	31
2.3.2.2.1	Erlotinib	32
2.3.2.2.2	Gefitinib	33
2.3.2.2.3	Afatinib	37
2.3.2.3	Cetuximab	38
2.3.2.4	Crizotinib	40
3	<b>Molekulárně-genetické prediktory efektu léčby EGFR-TKI</b>	41
3.1	Mutace genu EGFR	41
3.2	Exprese genu EGFR	42
3.3	Amplifikace genu EGFR	42
3.4	Mutace genu KRAS	42
3.5	Amplifikace genu MET.	44
3.6	Exprese a amplifikace genu HER2	44
3.7	Alterace na úrovni signální dráhy PI3K/AKT	44
	<b>ŘEŠENÍ VLASTNÍ STUDIE</b>	45
1	<b>Cíl</b>	45
2	<b>Aktivační mutace genu EGFR a mutace genu KRAS</b>	45
2.1	Metody	45
2.1.1	Soubor pacientů	45
2.1.2	Léčba a sledování follow-up	45
2.1.3	Molekulárně-genetické vyšetření	46
2.1.4	Statistické zpracování	46
2.2	Výsledky	48
2.2.1	Výskyt aktivačních mutací genu EGFR v populaci	48
2.2.2	Prediktivní význam aktivačních mutací genu EGFR	51
2.2.3	Výskyt mutací genu KRAS v populaci	54
2.2.4	Prediktivní význam mutací genu KRAS	57
2.3	Diskuze I	60

3	<b>Srovnání EGFR-TKI a chemoterapie v první linii léčby pacientů s aktivační mutací genu EGFR</b>	62
3.1	Metody	62
3.1.1	Soubor pacientů	62
3.1.2	Léčba a sledování follow-up	62
3.1.3	Molekulárně-genetické vyšetření	63
3.1.4	Statistické zpracování	63
3.2	Výsledky	65
3.2.1	Dosažená léčebná odpověď	65
3.2.2	Přežití pacientů	66
3.2.3	Nežádoucí účinky léčby	67
3.3	Diskuze II	69
	<b>ZÁVĚRY</b>	70
	<b>SEZNAM LITERATURY</b>	71
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b>	82
	<b>SEZNAM TABULEK</b>	85
	<b>PŘEDNÁŠKOVÁ A PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA</b>	86



## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

---

A - Alanin  
ALK - Anaplastic Lymphoma Kinase, anaplastická lymfomová kináza  
AKT - protein kináza B  
AUC - Area Under Curve, plocha pod křivkou  
C - Cystein  
CEA - Carcinoembryonic Antigen, Karcinoembryonální antigen  
CR - Complete Regression, kompletní regrese  
CT - Computed Tomography, počítačová tomografie  
ČOS - Česká onkologická společnost  
D - Asparagová kyselina  
DCR - Disease Control Rate, kontrola onemocnění  
DNA - Deoxyribonucleic Acid, deoxyribonukleová kyselina  
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  
ErbB - Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog  
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  
IGFR - Insulin-like Growth Factor Receptor  
KRAS - Kirsten-RAS  
M - Metastasis, vzdálené metastázy  
MAPK - Mitogen-Activated Protein Kinase  
MMP - matrix metaloproteinázy  
MR - magnetická rezonance  
N - Node, postižení lymfatických uzlin  
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  
OS - Overall Survival, celkové přežití  
PD - Progressive Disease, progredující onemocnění  
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  
PI3KCA - Phosphatidylinositol 3-kinase Catalytic Subunit-alpha, alfa katalytická podjednotka fosfatidylinositol 3-kinázy  
PAH - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons polycyklické aromatické uhlovodíky  
PR - Partial regression, partiální regrese  
Pro-GRP - Pro-Gastrin Releasing Peptid  
PS - Performance Status, stav výkonnosti  
PTEN - Phosphatase and Tensin Homolog  
RECIST - Response Evaluation Criteria in Solid Tumors  
S - Serin  
SCLC - Small-cell Lung Cancer, malobuněčný karcinom plic  
SD - Stable disease, stabilizace onemocnění  
T - Tumor, velikost nádoru  
TGF - Transforming Growth Factor, transformující růstový faktor  
TIMP - Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, tkáňové inhibitory metaloproteináz  
TNF - Tumor Necrosis Factor, tumor nekrotizující faktor  
TPA - Tissue Polypeptide Antigen, tkáňový polypeptidový antigen  
TPS - Tissue Polypeptide Specific Antigen, tkáňový polypeptidový specifický antigen  
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  
VMS - videomediastinoskopie  
VTS - videotorakoskopie  
WHO - World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

## ÚVOD

---

Karcinom plic zaujímá přední místa v incidenci i mortalitě nádorových onemocnění celosvětově, i v České republice. Z hlediska histopatologického můžeme plicní karcinomy rozdělit na dva základní typy, malobuněčný karcinom plic (SCLC) a nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC). NSCLC je nejčastější histologický typ, který představuje cca 80% všech plicních karcinomů. Karcinom plic je velmi často diagnostikován v pokročilém stadiu, kdy již není možné pacientovi poskytnout kurativní léčbu v podobě radikální chirurgické resekce, případně radioterapie. Prognóza pacientů s pokročilým stadiem onemocnění je velmi závažná.

Pokrok na poli molekulární biologie a genetiky v posledních letech vedl k porozumění některým klíčovým patofyziologickým mechanismům kancerogeneze, proliferace, metastazování a přežívání nádorových buněk. Na základě těchto poznatků bylo možné odhalit některé cílové struktury, respektive signální dráhy, jejichž zablokování vede k účinnému a selektivnímu poškození nádorových buněk. Léčiva, která působí na tomto principu, se označují jako „cílená léčba“. Preparáty cílené léčby prokázaly svou účinnost na poli plicní onkologie zatím pouze u NSCLC. Zde jsou užívány pro léčbu pokročilých stadií, v podobě lokoregionálně pokročilého, nebo metastatického onemocnění. Nízkomolekulární inhibitory tyrozinkináz receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR-TKI) představují moderní, účinné preparáty cílené léčby, které jsou dnes již standardně užívány k léčbě pacientů s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC.

V poslední době probíhá intenzivní výzkum s cílem najít vhodné biomarkery, které by bylo možné v klinické praxi použít k předpovědi efektu cílené léčby, tzv. „prediktivní biomarkery“. Nalezení takových biomarkerů pak umožňuje zvolit optimální léčbu pro daného pacienta, tedy léčbu, u které je vysoká pravděpodobnost, že z ní bude pacient dobře profitovat. Tento princip výběru léčby, na základě identifikace prediktivních biomarkerů je základem konceptu personalizované onkologické léčby. U NSCLC byly v minulosti identifikovány některé genetické alterace, které predikují efekt léčby EGFR-TKI, avšak dále zde zůstává mnoho nezodpovězených otázek.

Snahou této práce je podat ucelený pohled na problematiku systémové léčby NSCLC, zejména s důrazem kladeným na cílenou léčbu, hledání prediktivních biomarkerů léčby EGFR-TKI a rovněž zodpovědět některé, zatím stále otevřené otázky, týkající se této problematiky.

## CÍL PRÁCE

---

Tato práce je zaměřena na zmapování výskytu a významu vybraných molekulárně genetických biomarkerů v souboru pacientů s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC. Vlastní studie je rozdělena na dvě části.

První část práce je zaměřena na zmapování výskytu aktivačních mutací genu EGFR a mutací genu KRAS u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC a rovněž na zjištění prediktivního významu těchto mutací u pacientů, kteří byli léčeni EGFR-TKI. Zvláštní pozornost je věnována zejména prediktivnímu významu aktivačních mutací genu EGFR podle histologického typu NSCLC a prediktivnímu významu specifického typu mutací genu KRAS.

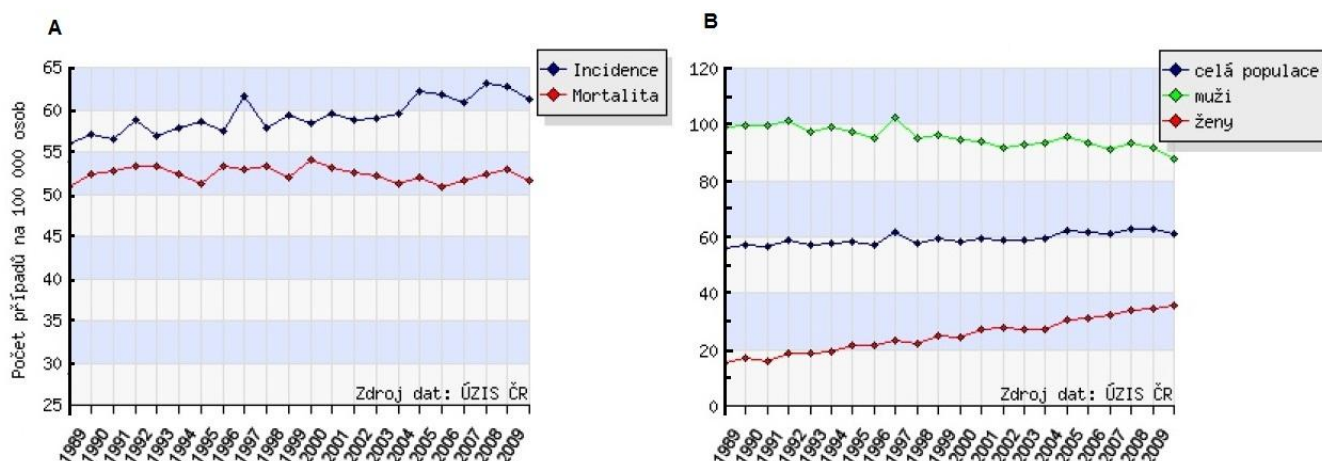
Druhá část práce je zaměřena na praktický význam genetického testování při rozhodování o léčbě první linie u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Jedná se o retrospektivní studii, která porovnává efektivitu a bezpečnost chemoterapie a EGFR-TKI u selektované skupiny pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR.

# POPIS SOUČASNÉHO STAVU PROBLEMATIKY

## 1 Úvod do problematiky NSCLC

### 1.1 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 a jeho incidence zde činila v roce 2009 61,2 případů na 100 000 obyvatel a mortalita 51,5 na 100 000 obyvatel. Během posledních dvaceti let je trend v incidenci mírně vzestupný, trend v mortalitě je setrvalý (**Obrázek 1A**). 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 [1] (**Obrázek 1B**).



**Obrázek 1** - Časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci (**A**). Časový vývoj incidence v naší populaci podle pohlaví (**B**). Převzato a upraveno podle: DUŠEK L., et al., 2013.

### 1.2 Etiologie

Dobře známým, nejčastějším etiopatogenetickým faktorem plicního karcinomu je nepochybně kouření. Rozsáhlé epidemiologické studie jednoznačně prokázaly, že kuřáci jsou výrazně více ohroženi plicním karcinomem než nekuřáci a míra rizika koreluje s počtem vykouřených cigaret. 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].

### 1.3 Histopatologická klasifikace plicních karcinomů

Z hlediska histopatologického jsou karcinomy plic děleny na dvě základní skupiny, malobuněčný karcinom plic (*Small-cell lung cancer*, SCLC) a nemalobuněčný karcinom plic (*Non-small cell lung cancer*, NSCLC). Toto základní dělení má zásadní význam, protože jde

o nádory s výrazně odlišným biologickým chováním, z toho pak plyne i odlišný terapeutický přístup. NSCLC je nejčastějším histologickým typem, který zaujímá více než 80% 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**) [6, 7]. 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 [8]. Přesná morfologická diagnóza tak postupně nabývá na významu a stává se pro klinika nepostradatelnou.

**Tabulka 1** - Histopatologická klasifikace NSCLC dle WHO

<b>Skvamózní karcinom</b>
Papilární
Světlobuněčný
Bazaloidní
<b>Adenokarcinom</b>
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
<b>Velkobuněčný karcinom</b>
Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom
Kombinovaný velkobuněčný neuroendokrinní karcinom
Bazaloidní karcinom
Lymfoepiteliomu podobný karcinom
Světlobuněčný karcinom
Velkobuněčný karcinom s rabdoidním fenotypem
<b>Adenoskvamózní karcinom</b>
<b>Sarkomatoidní karcinom</b>
Pleomorfní karcinom
Vřetenobuněčný karcinom
Obrovskobuněčný karcinom
Karcinosarkom
Pulmonální blastom
<b>Karcinom typu slinných žláz</b>
Mukoepidermoidní karcinom
Adenoidně cystický karcinom
Epiteliálně myoepiteliální karcinom

## 1.4 Diagnostika

Při prvním kontaktu s pacientem je nezbytná podrobná anamnéza zahrnující aktuální obtíže pacienta, jiná chronická onemocnění, užívané léky, alergie, rodinnou anamnézu, kouření, nebo expozici jiným rizikovým faktorům. Následuje důkladné objektivní klinické vyšetření. Poslechově se na hrudi můžeme často setkat s pískoty, vrzoty, oslabeným nebo vymizelým dýcháním, v důsledku atelektázy nebo 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 onemocněním. Zobrazovací vyšetření první volby představuje skiagram hrudníku, který je vhodný 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. Z dalších zobrazovacích metod se při diagnostice a stážování plicního karcinomu významně uplatňují: ultrasonografie (USG) břicha a nadklíčků, scintigrafie skeletu, eventuálně PET/CT (pozitronová emisní tomografie – PET), při podezření na metastatické postižení mozku pak CT, případně magnetická rezonance (MR) mozku, k vyloučení metastatického postižení skeletu je využíváno scintigrafické vyšetření. Velmi důležitou diagnostickou, ale i terapeutickou metodu představuje bronchoskopie. Bronchoskopie umožňuje posouzení rozsahu a vývoje onemocnění 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 [9, 10]. Mezi moderní metody, které rozšiřují možnosti bronchoskopie patří endoskopické USG (EBUS) [11, 12] a navigovaná bronchoskopie [13]. 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 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 léčby je zásadně důležité přesné stanovení rozsahu postižení a určení klinického stadia onemocnění, neboli stážování (*staging*). Pro staging je v současné době užívána 7. revize TNM klasifikace [14], podle níž je onemocnění rozděleno do čtyř stádií, při čemž stádium I, II a III mají dvě podstádium, A a B (**Tabulka 2 a 3**).

**Tabulka 2 - TNM staging – kritéria pro hodnocení**

<b>T: primární nádor</b>	
<b>TX</b>	Primární nádor nelze hodnotit, ale přítomnost nádoru signalizují nádorové buňky ve sputu nebo bronchiálním výplachu, nicméně nádor sám nebyl prokázán zobrazovacími vyšetřeními ani bronchoskopicky
<b>T0</b>	Bez příznaků přítomnosti primárního nádoru
<b>Tis</b>	Karcinom in situ
<b>T1</b>	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
<b>T2</b>	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 plíce
T2a	Nádor je > 3 cm ale ≤ 5 cm v největším rozměru
T2b	Nádor je > 5 cm ale ≤ 7 cm v největším rozměru
<b>T3</b>	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 plíce · nádor vytváří oddělený/é (satelitní) nádorový/é uzel/uzly ve stejném laloku
<b>T4</b>	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
<b>N: regionální lymfatické uzliny</b>	
<b>NX</b>	Regionální lymfatické uzliny není možné hodnotit
<b>N0</b>	Bez přítomnosti metastáz v regionálních lymfatických uzlinách
<b>N1</b>	Metastázy v ipsilaterálních peribronchiálních a/nebo ipsilaterálních hilových uzlinách a intrapulmonálních uzlinách včetně postižení přímým prorůstáním primárního nádoru
<b>N2</b>	Metastázy v ipsilaterálních mediastinálních a/nebo subkarinních lymfatických uzlinách
<b>N3</b>	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
<b>M: vzdálené metastázy</b>	
<b>MX</b>	Vzdálené metastázy není možné hodnotit
<b>M0</b>	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 stadií**

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

## 1.5 Chirurgická léčba a radioterapie u NSCLC

Radikální chirurgické odstranění nádoru, eventuelně doplněné adjuvantní chemoterapií, poskytuje pacientovi jednoznačně nejlepší vyhlídky na dlouhodobé přežití. Chirurgická léčba je metodou volby pro pacienty ve stadiu I, II a IIIA. Radikální operační výkon u NSCLC představuje anatomická resekce v podobě lobektomie a pneumonektomie, případně vpravo bilobektomie. Součástí výkonu je extirpace hilových a mediastinálních lymfatických uzlin [15]. U ventilačně nebo interně kompromitovaných pacientů je možné zvážení provedení anatomické resekce menšího rozsahu v podobě segmentektomie. Před rozhodnutím o chirurgickém výkonu je nezbytné pečlivé posouzení celkového zdravotního stavu pacienta, včetně množství reziduálního funkčního plicního parenchymu. Pětileté přežití operovaných pacientů s NSCLC závisí na stadiu onemocnění a pohybuje se mezi 67 % u stadia IA a 23 % u stadia IIIA [16].

Radioterapie je v léčbě NSCLC užívána se záměrem kurativním, nebo paliativním. Radikální (kurativní) radioterapie je většinou užívána pro léčbu lokoregionálně pokročilého onemocnění, které není řešitelné chirurgicky, nebo může představovat alternativu k chirurgickému výkonu u pacientů, kteří z různých důvodů nemohou chirurgickou léčbu podstoupit. Při radikální radioterapii jsou aplikovány vysoké dávky záření (60-80 Gy za 6 až 8 týdnů), často v kombinaci s chemoterapií v podobě konkomitantní nebo sekvenční (viz kapitola 2.1). Při paliativní radioterapii jsou aplikovány nižší dávky záření a jejím cílem je zejména potlačit nebo zmírnit obtíže nemocného. Paliativní radioterapie může být cílena jak na lokoregionálně pokročilé onemocnění, tak na metastázy, nejčastěji lokalizované v mozku nebo skeletu [17]. V poslední době došlo k významnému rozvoji stereotaktické radioterapie plicních nádorů, která spočívá v aplikaci vysoké dávky záření v malém počtu frakcí s vysokou přesností. Jde o vysoce efektivní léčbu vhodnou pro časná stadia NSCLC. Dosavadní poznatky ukazují, že její efekt u stadia I je srovnatelný s léčbou chirurgickou [18].

## 1.6 Význam systémové léčby NSCLC

Karcinom plic je velmi často diagnostikován v pokročilém stadiu, kdy již není možné provedení radikálního chirurgického odstranění nádoru, navíc část pacientů nemůže takový výkon podstoupit z důvodu dalších komorbidit. V praxi je tak v České republice operováno jen cca 12 % ze všech diagnostikovaných pacientů a z toho pouze u cca 6–7 % je proveden radikální výkon, který již nevyžaduje další onkologickou léčbu [19]. Za pozornost jistě stojí i fakt, že téměř polovina pacientů je diagnostikována ve stadiu metastatického onemocnění (stadium IV) [1], kde jedinou možností léčby představuje právě léčba systémová.

Pod pojem systémová léčba patří chemoterapie a cílená léčba. Obě tyto léčebné modalitty se od sebe významným způsobem liší v mechanismu účinku, efektivitě i ve spektru a závažnosti vedlejších nežádoucích účinků. Systémová léčba má zásadní postavení v léčbě metastatického (IV), nebo lokoregionálně pokročilého (IIIB) stadia NSCLC. Důležitou roli má systémová léčba, respektive chemoterapie, i u méně pokročilých stadií NSCLC, kde je většinou kombinována s léčbou chirurgickou, nebo s radioterapií a snižuje tak riziko recidivy onemocnění.

Prognóza pacientů s pokročilým NSCLC je velmi závažná. Přežití pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, pokud byli léčeni pouze základní podpůrnou léčbou, se dříve pohybovalo v rozmezí 2–5 měsíců a pouze 10 % pacientů přežívalo déle než jeden rok [20]. Zavedením chemoterapie, která byla zpočátku užívána zejména pro léčbu pokročilých stadií onemocnění, se podařilo dosáhnout prodloužení přežití pacientů a rovněž zmírnění příznaků onemocnění. NSCLC patří mezi relativně chemorezistentní onemocnění, proto jsou zde možnosti chemoterapie značně limitované. Užitím cytostatik v podobě dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace bylo dosaženo tzv. terapeutického plateau s mediánem přežití 8–10 měsíců [21]. Významným mezníkem v léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC byl nástup cílené léčby. Zavedením preparátů cílené léčby a některých moderních cytostatik bylo v poslední době dosaženo dalšího významného prodloužení přežití a rovněž zlepšení kvality života pacientů. Problematice systémové léčby NSCLC je podrobně věnována celá kapitola 2.

## 1.7 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 stadia onemocnění, ale rovněž znalost molekulárně-genetického profilu nádoru. Samozřejmostí je pochopitelně celkový stav pacienta včetně adekvátních orgánových funkcí a v neposlední řadě je třeba zohlednit náhled a přání samotného pacienta. 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 a možností onkologické léčby. U NSCLC bylo v poslední době 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, Asiatů a Evropanů, žen a mužů nebo u adenokarcinomů a skvamózních karcinomů [22–30]. 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 predikovat průběh onemocnění, bez ohledu na volbu konkrétního léčebného 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 léčby. Výzkumem řady potenciálních prediktivních markerů, zejména cílené léčby, se v současné době zabývá velké množství vědců na celém světě. Pro ověření prediktivního významu biomarkeru je nutné provedení rozsáhlých klinických studií. Prediktivní marker, který má být užíván v rutinní klinické praxi musí být dostatečně senzitivní, specifický a 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 markerů, zejména na molekulárně-genetické úrovni, má velmi důležitý význam pro aplikaci konceptu personalizované onkologické léčby v klinické praxi. Právě na základě identifikace prediktivních markerů pak může probíhat volba konkrétní léčebné strategie, kdy je pacientovi podána taková léčba, u které je nejvyšší pravděpodobnost, že z ní bude dobře profitovat.

## 2 Možnosti systémové léčby NSCLC

### 2.1 Postavení systémové léčby u NSCLC a vymezení základních pojmů

#### 2.1.1 Systémová léčba jako součást multimodální léčby NSCLC

Systémovou léčbu je možné kombinovat s chirurgickým výkonem, eventuelně radioterpií v podobě **neoadjuvantní** (před radikální chirurgickou resekci) nebo **adjuvantní** (následující po radikální chirurgické resekci). Tento přístup se uplatňuje zejména při léčbě časných, chirurgicky řešitelných stadií onemocnění (I-IIIa). Jak již bylo uvedeno, výsledky pětiletého přežití pacientů, přestože byla provedena radikální resekce tumoru, nejsou uspokojivé. K relapsu 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 v této indikaci je v současné době předmětem klinických studií.

Chemoterapii je možné kombinovat s radioterapií, 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. U nich se pak chemoterapie používá obdobně jako u pacientů operovaných, tedy jako léčba adjuvantní, eventuelně neoadjuvantní.

#### 2.1.2 Systémová léčba jako samostatná léčebná modalita u NSCLC

U pokročilých stadií NSCLC, zejména ve stadiu metastatického onemocnění (stadium IV), se většinou systémová léčba užívá samostatně a bývá zde označována termínem **paliativní**. Její význam spočívá nejen v prodloužení přežití pacientů, ale i ve zmírnění příznaků onemocnění. V této indikaci se standardně uplatňuje jak chemoterapie, tak léčba cílená.

##### 2.1.2.1 Udržovací léčba (*maintenance*)

Udržovací léčba představuje perspektivní moderní léčebnou strategii, která je založena na pokračování v podávání cílené léčby nebo chemoterapie déle než 4–6 cyklů, 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 režimy udržovací léčby: pokračující udržovací léčba (*continuation maintenance*) a konsolidační udržovací léčba (*switch maintenance*).

##### 2.1.2.1.1 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 [31].

### **2.1.2.1.2 Konsolidační udržovací léčba (*switch maintenance*)**

Při konsolidační udržovací léčbě se po 4–6 cyklech indukční léčby kombinací s platinovým derivátem dále pokračuje v terapii jiným cytostatickým režimem, nebo preparátem cílené léčby, a to aniž by po indukční léčbě došlo k progresi onemocnění. Tato strategie vychází z předpokladu, že časné zahájení další léčby (tj. ještě před progresí onemocnění, respektive před rozvojem rezistence nádoru) bez zkřížené rezistence může zlepšit výsledný stav [31].

## **2.2 Chemoterapie v léčbě NSCLC**

NSCLC patří mezi nádory málo až středně senzitivní k cytostatické léčbě, proto byla úloha chemoterapie v léčbě NSCLC poměrně dlouhou dobu zpochybňována a v širším měřítku začala být používána až v 80. letech 20. století. Zpočátku se chemoterapie používala 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. Zavedením těchto cytostatik do klinické praxe bylo dosaženo významného prodloužení přežití pacientů s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC. Postupně byl prokázán význam cytostatické léčby i v indikaci adjuvantní a neoadjuvantní.

### **2.2.1 Neoadjuvantní chemoterapie**

Neoadjuvantní chemoterapie představuje léčbu, která předchází předem plánované radikální chirurgické resekci tumoru. Účelem neoadjuvance je redukovat rozsah onemocnění a usnadnit nebo umožnit tak provedení chirurgického odstranění tumoru s maximální radikalitou, včetně časné eradikace mikrometastáz. Výhody neoadjuvantní léčby spočívají v rychlejší eradikaci mikrometastáz a lepší toleranci léčby pacientem. Naopak, rizika neoadjuvance spočívají v rezistenci na léčbu vedoucí k progresi onemocnění do inoperabilního stadia a zhoršení celkového stavu pacienta v důsledku komplikací léčby. Klinických studií, které by prokázaly význam neoadjuvantní chemoterapie u operabilního stadia NSCLC je stále relativně málo a tento postup tedy není v současné době standardem léčby. Užití neoadjuvantní léčby v podobě chemoterapie, případně chemoradioterapie je možné zvážit u pacientů s potenciálně operabilním nálezem stadia IIIA. V neoadjuvantní indikaci je užívána kombinace cytostatika III. generace a platinový derivát (cisplatina nebo karboplatina).

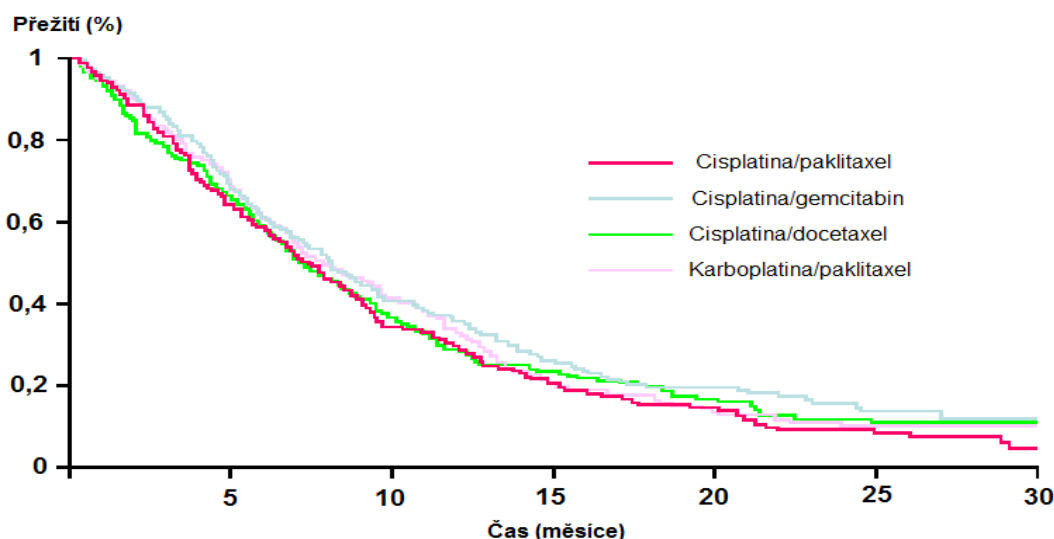
### **2.2.2 Adjuvantní chemoterapie**

Adjuvantní chemoterapie je léčba, která následuje bezprostředně po radikálním chirurgickém odstranění tumoru, popř. po radioterapii s kurativním záměrem. Účelem adjuvance je zejména časná eradikace mikrometastáz. Adjuvantní chemoterapie je doporučena pro stadia IIA, IIB a IIIA, v některých případech je možné zvážení jejího užití i pro stadium IB. V adjuvantní indikaci je užívána kombinace platinového derivátu (cisplatina nebo karboplatina) s vinorelbínem nebo paclitaxelem. Pokud je kontraindikováno užití platinového derivátu a není tak možné užití léčby kombinované, je možná monoterapie vinorelbínem, docetaxelem, paclitaxelem nebo gemcitabinem. Standardně je podáváno 4–6 cyklů.

### 2.2.3 Paliativní chemoterapie

Paliativní chemoterapie je užívána v léčbě pokročilých stadií NSCLC v podobě metastatického (stadium IV) nebo lokoregionálně pokročilého onemocnění (stadium IIIB), v tomto případě je pak často kombinována s radioterapií. Paliativní chemoterapie má význam jednak v prodloužení přežití pacientů, ale také ve zmírnění příznaků onemocnění. Paliace obtíží bývá dosaženo až u 70 % pacientů a je to spojeno i se zlepšením kvality života těchto pacientů [32]. V minulosti proběhla řada rozsáhlých klinických studií zaměřených na srovnání účinnosti a toxicity různých kombinací cytostatik III. generace s platinovým derivátem a bylo zjištěno, že jejich účinnost se v podstatě neliší. Bylo zde dosaženo tzv. léčebného plateau s přežitím 8–10 měsíců (**Obrázek 2**) a léčebnou odpovědí 20–35% [21]. Díky nástupu některých moderních cytostatik, preparátů cílené léčby a postupnému etablování konceptu personalizované onkologické léčby došlo v posledních několika letech k prolomení zmiňovaného terapeutického plateau a i nadále jsme svědky postupného významného prodlužování přežití pacientů s pokročilým stadiem NSCLC.

Při volbě léčebného schématu a dávkování je nutné důsledné posouzení řady kritérií, jako je stav výkonnosti pacienta, 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**) [33]. Užití 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 chemoterapií indikována. Systémová léčba pacientů s pokročilým NSCLC je standardně stratifikována do tří linií. Při zjištění progresu 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 linii. Léčebná odpověď je sledována pravidelnými kontrolami skiagramu před podáním následujícího cyklu a po 2–3 cyklech je doporučeno kontrolní CT, eventuálně kompletní přestážování onemocnění [34, 35].



**Obrázek 2** – Srovnání přežití pacientů pro kombinace cytostatik III. generace s platinovým derivátem (cisplatina/karboplatina)

*Převzato a upraveno podle: SCHILLER, J.H., et al., 2002 [21].*

**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 zcela neschopný, neschopen péče o sebe, zcela upoután na lůžko nebo do křesla
5	Mrtvý

### 2.2.3.1 Léčba první linie

Pro volbu optimální prvoliniové léčby má v současné době zásadní význam určení histologického typu NSCLC a genetické testování na přítomnost aktivační mutace genu receptoru pro epidermální růstový faktor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR). U pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR je v první linii užívána cílená léčba v podobě nízkomolekulárních inhibitorů EGFR tyrozinkináz (EGFR-TKI), které představují gefitinib a erlotinib. U pacientů, kteří jsou nositeli *wild-type* EGFR genu nebo u nichž nebylo genetické vyšetření provedeno je v první linii standardně užívána chemoterapie, jejíž volba se odvíjí od histopatologické diagnózy. Pro léčbu pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC je v první linii užíváno antifolátové cytostatikum nové generace, pemetrexed, v kombinaci s platinovým derivátem (cisplatina, karboplatina) nebo kombinace paklitaxel nebo gemcitabin s platinovým derivátem a anti VEGF (*vascular endothelial growth factor* – vaskulární endotelový růstový faktor) monoklonální protilátkou, bevacizumabem. V některých zemích je možné užít v první linii kombinaci chemoterapie s anti EGFR monoklonální protilátkou, cetuximabem (mechanismu a užití cílené léčby u NSCLC je věnována celá kapitola 2.3). Pro prvoliniovou léčbu pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC je standardem dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace (paklitaxel, docetaxel, gemcitabin, vinorelbin), tuto kombinaci je možné užít i u pacientů s neskvamózním histologickým typem NSCLC. Standardně se v první linii používá 4–6 cyklů chemoterapie, pokud během léčby nedojde k progresi nálezů. Souhrn nejčastěji užívaných léčebných schémat je uveden v **Tabulce 4**. Pemetrexed je možné užít v režimu pokračující nebo konsolidační udržovací léčby, jak bylo popsáno v předchozím textu. V případě kombinace chemoterapie a cílené léčby, je po 6 cyklech pokračováno v monoterapii preparátem cílené léčby až do zjištění progresu onemocnění [34, 35].

**Tabulka 4 - Kombinace pro léčbu první linie u NSCLC**

<b>Paliativní chemoterapie NSCLC – nejčastěji užívané kombinace pro léčbu první linie</b>
karboplatina + paklitaxel
cisplatina + paklitaxel
karboplatina + docetaxel
cisplatina + docetaxel
cisplatina + vinorelbin
karboplatina + vinorelbin
karboplatina + gemcitabin
cisplatina + gemcitabin
cisplatina + pemetrexed (neskvamózní histologický typ NSCLC)
karboplatina + pemetrexed (neskvamózní histologický typ NSCLC)
karboplatina + paklitaxel + bevacizumab (neskvamózní histologický typ NSCLC)
cisplatina + gemcitabin + bevacizumab (neskvamózní histologický typ NSCLC)

### **2.2.3.2 Léčba druhé linie**

Ve druhé linii je standardně užívána chemoterapie nebo EGFR-TKI (erlotinib). Při volbě léčby je třeba zohlednit stav pacienta včetně ECOG PS a orgánových funkcí, histologický typ NSCLC, výsledek genetického vyšetření i předchozí léčbu. V případě volby chemoterapie je možné užít docetaxel nebo pemetrexed v monoterapii. Pemetrexed je vhodný pouze pro léčbu NSCLC neskvamózního histologického typu (pokud nebyl užít v první linii), zejména pro jeho relativně nízkou toxicitu. Docetaxel je vhodný pro léčbu skvamózního i neskvamózního histologického typu NSCLC. U pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR, kteří nebyli v první linii léčeni EGFR-TKI, je vhodné užití tohoto preparátu v linii druhé. Dvojkombinace platinového derivátu s cytostatikem III. generace nebo pemetrexedem, eventuelně kombinace chemoterapie s bevacizumabem (u neskvamózního histologického typu NSCLC) je možno v druhé linii užít pouze v případě, že byl v první linii užít EGFR-TKI [34, 35].

### **2.2.3.3 Léčba třetí linie a v dalších liniích**

Ve třetí linii léčby se standardně užívá cílená léčba. EGFR-TKI (erlotinib) je doporučen ve třetí linii u pacientů, kteří jej neměli v linii druhé nebo první [34, 35]. 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.



## 2.3 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 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 specifické signální dráhy, která je patologicky aktivovaná 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 v posledních letech významně přispělo k prodloužení přežití a rovněž ke 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 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 představují 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.

### 2.3.1 Hlavní terče cílené léčby u NSCLC

#### 2.3.1.1 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 složitý 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 adhezních 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 adhezních 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**, **interleukin 1**, **interleukin 6** a **interleukin 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 [36-44].

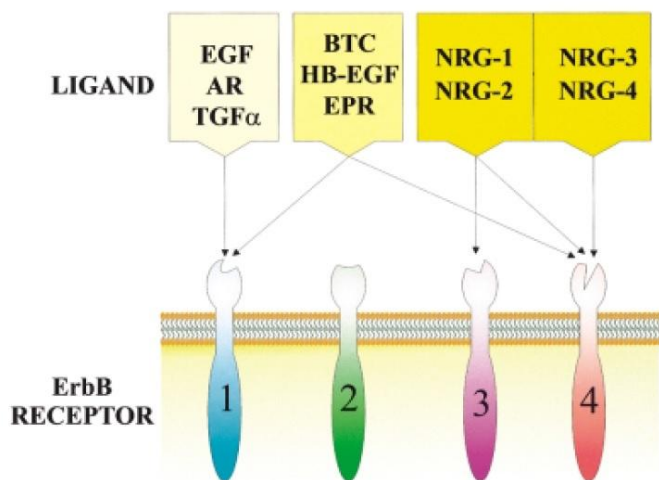
Vzájemné interakce všech uvedených faktorů jsou velmi složité a doposud nebyly zcela podrobně objasněny. Za fyziologických podmínek je mezi angiogenními a antiangiogenními faktory rovnováha, jejíž narušení, u patologických stavů, vede k deregulaci angiogeneze. Deregulovaná angiogeneze u nádorových onemocnění 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 nekróz, které však stimuluje další patologickou angiogenezi [36-44]. 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 jinou hypotetickou možnost, která se zatím v praxi nevyužívá. 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, motesanib nebo pazopanib. V léčbě NSCLC je standardně požíván jediný z uvedených preparátů, bevacizumab [45].

### 2.3.1.2 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, diferenciace, proliferace 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 amfiregulin. 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 3**). 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 [45, 46].

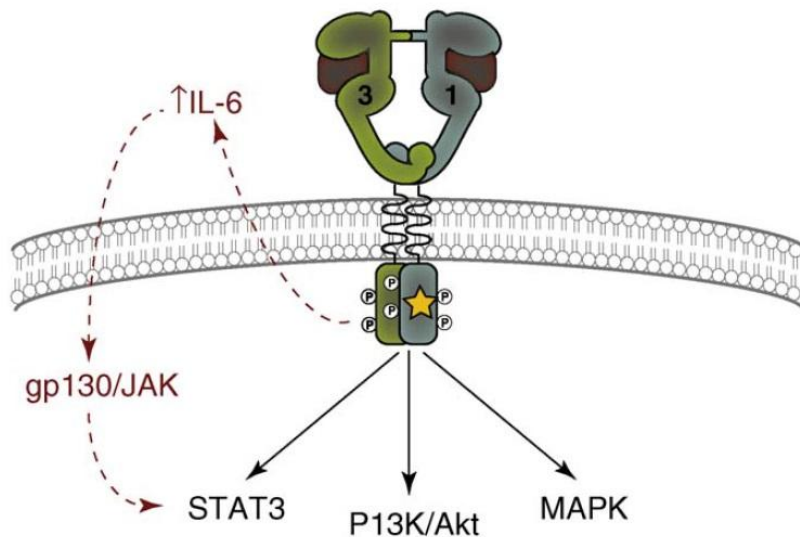


**Obrázek 3** - Vazba ligandů na receptory rodiny HER (ErbB)

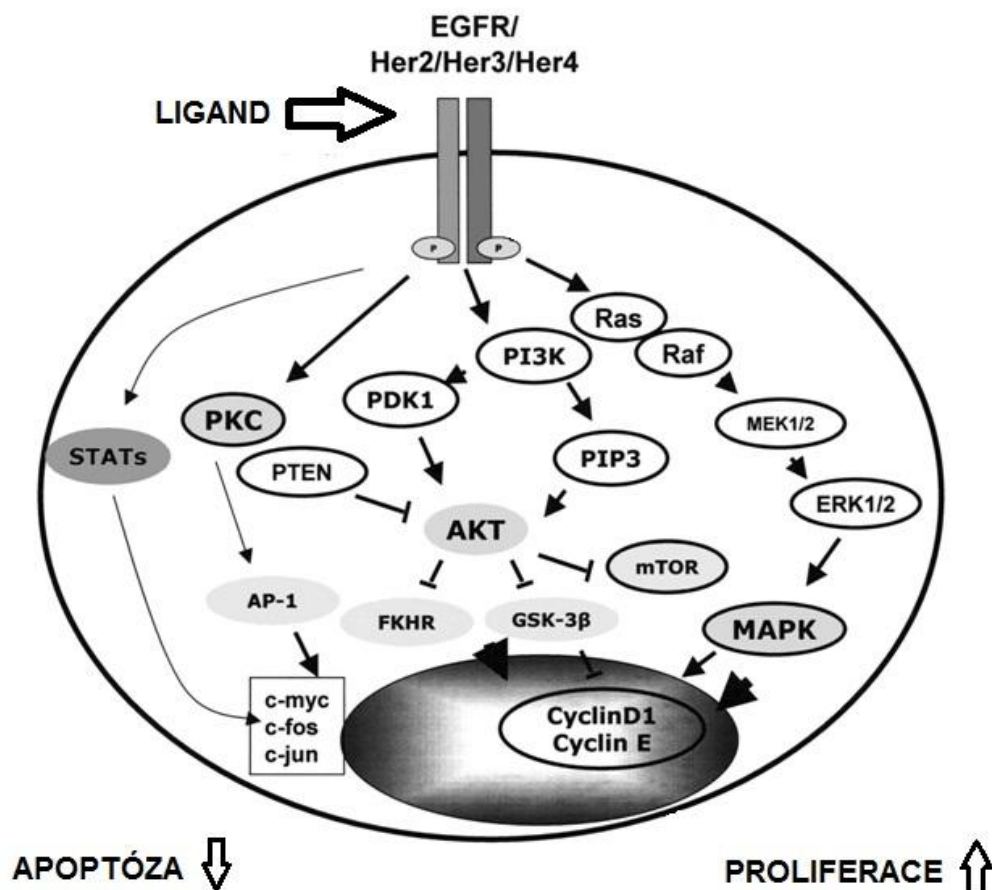
*Převzato a upraveno podle: OLAI OYE, M.A., et al., 2000 [46].*

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 (**Obrázek 4, 5**), 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) [45, 47, 48].



**Obrázek 4** - Aktivace EGFR signální dráhy – tvorba heterodimeru – fosforylace tyrozinkinázoové domény – aktivace dalších signálních drah  
*Převzato a upraveno podle: HYNES, N.E., et al., 2009 (49).*



**Obrázek 5** - Komplexní pohled na EGFR signální dráhy  
*Převzato a upraveno podle: SCAGLIOTTI, G.V., et al., 2004 [50].*

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 [45, 50-56].

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 (erlotinib, gefitinib), nebo ireverzibilních nízkomolekulárních tyrozinkinázových inhibitorů (afatinib). Jinou možností je blokáda extracelulární domény EGFR vazbou specifické monoklonální protilátky (cetuximab, matuzumab, panitumumab, necitumumab) [46].

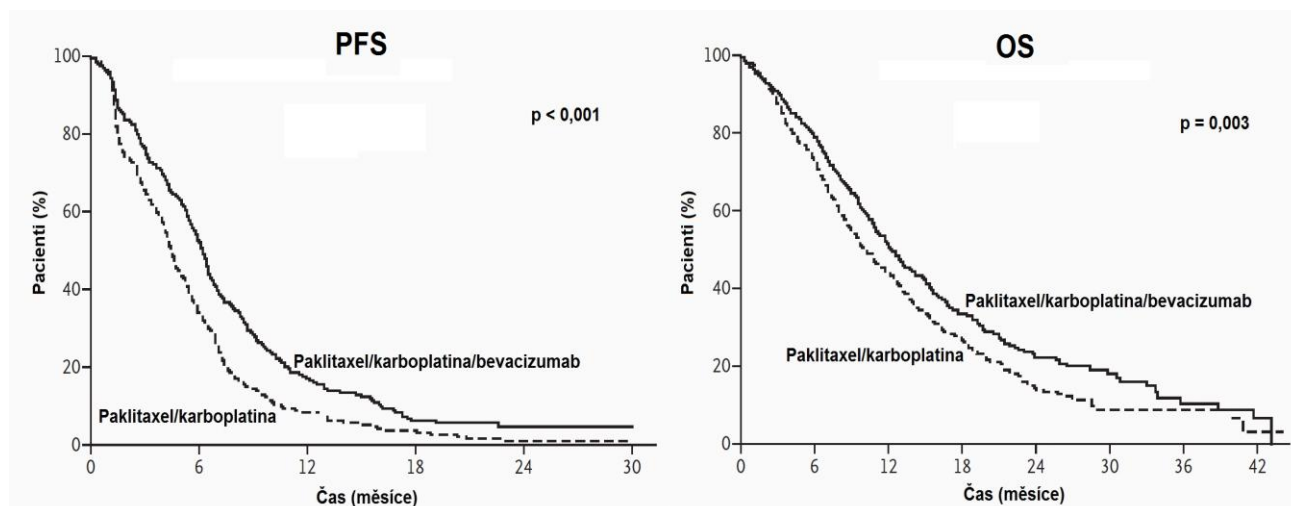
## 2.3.2 Preparáty cílené léčby užívané u NSCLC

### 2.3.2.1 Bevacizumab

Bevacizumab (Avastin®) 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 redukci jejich novotvorby, důsledkem sníženého přísunu kyslíku a živin je zastavení růstu a zmenšení velikosti primárního nádoru i metastáz [57].

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, dvě nejvýznamnější jsou uvedeny níže.

Ve studii **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 6**) [58], při čemž nejlepších výsledků bylo dosaženo v podskupině pacientů s adenokarcinomem [59]. V rameni s bevacizumabem byl zjištěn častější výskyt neutropenie (24% vs. 16,4%) a hypertenze 2. stupně (6% vs. 0,7%), nejzávažnějším nežádoucím účinkem bevacizumabu byla masivní hemoptýza (4,5% vs. 0,7%), která se vyskytovala převážně u pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC [58, 59].



**Obrázek 6** - Srovnání přežití pacientů ve studii E4599

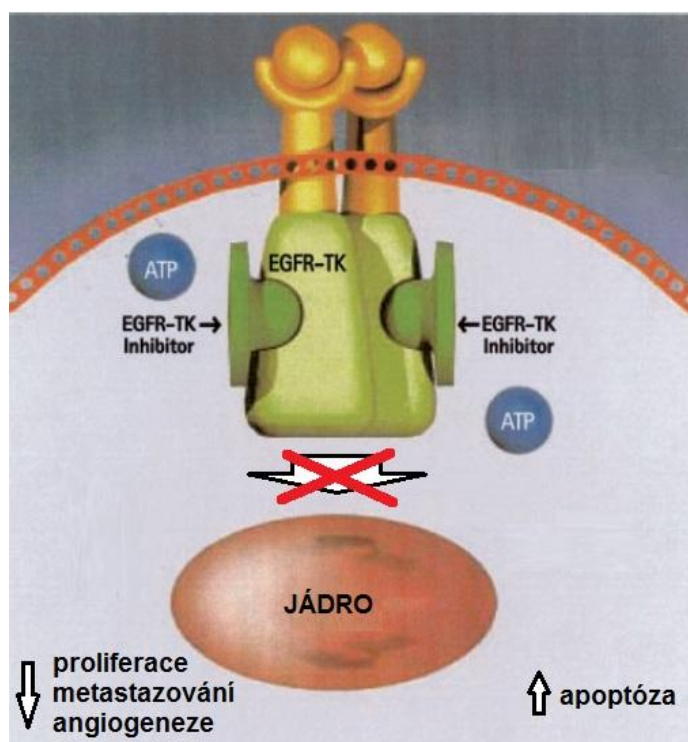
Převzato a upraveno podle: SANDLER, A., et al., 2006 [58].

Ve studii **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 [60, 61].

### 2.3.2.2 EGFR tyrozinkinázové inhibitory

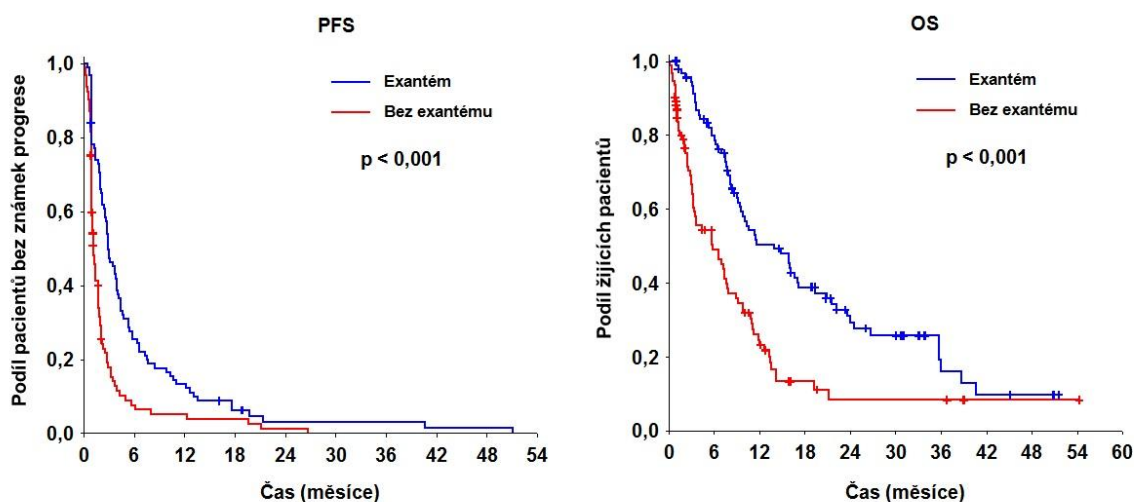
Tyrozinkinázové inhibitory receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR-TKI) jsou nízkomolekulární látky, které pronikají do buňky, kde kompetitivně blokují fosforylaci tyrozinkinázové domény, která je lokalizována na cytoplazmatické doméně receptoru. Toto pak vede k blokádě celé signální dráhy receptoru a v konečném důsledku dochází k zastavení proliferace a indukci apoptózy takto zasažené nádorové buňky (**Obrázek 7**). Mezi tyto preparáty patří erlotinib, gefitinib a afatinib. 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). 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 [62-65]. Důvod proč, není zcela jasný, ale některé preklinické studie poukazují na možný antagonistický efekt této cílené léčby a konvenční chemoterapie [66-68]. 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 NSCLC.



**Obrázek 7** - Inhibice EGFR signální dráhy na úrovni tyrozinkinázové domény  
*Převzato a upraveno podle: HERBST, R.S., et al., 2003 [69].*

### 2.3.2.2.1 Erlotinib

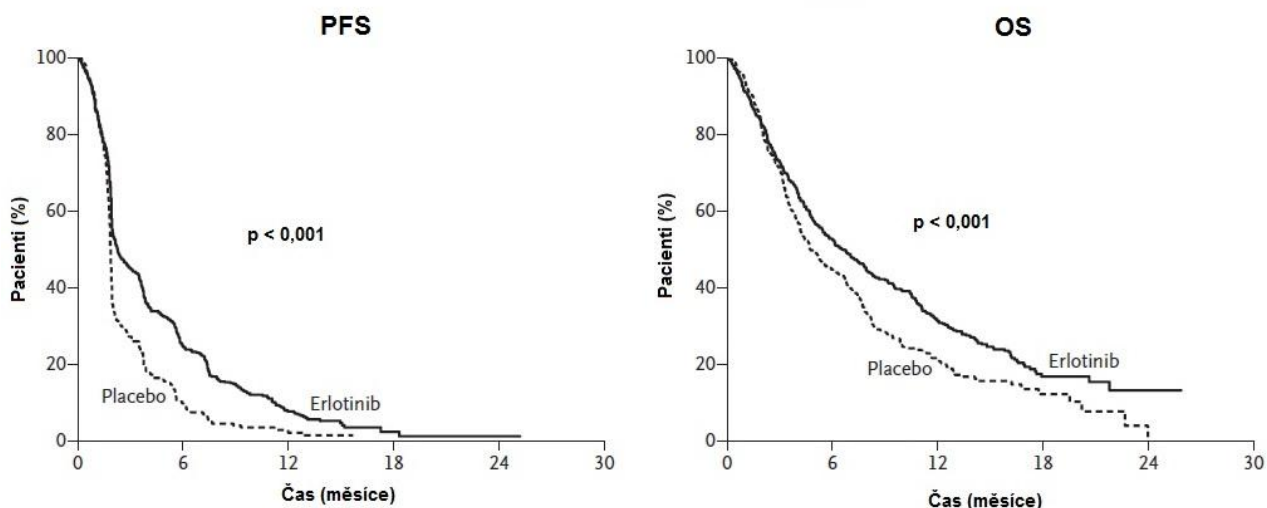
Erlotinib (Tarceva®) je perorální nízkomolekulární reverzibilní inhibitor tyrozinkinázy EGFR. Je užíván v dávce 150 mg/den. Při špatné toleranci, nebo rozvoji nežádoucích účinků je možné dávku redukovat. Erlotinib je indikován k léčbě pacientů s pokročilým stadiem NSCLC v první linii u těch, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR, nebo po selhání chemoterapie první (nebo druhé) linie u pacientů, kteří jsou nositeli *wild-type* EGFR genu, nebo těch, kteří nebyli geneticky testováni. Jinou indikací je léčba v režimu konsolidační udržovací léčby (*switch maintenance*). 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, xerodermie, paronychia, průjmy a elevace transamináz. Bylo prokázáno, že výskyt a intenzita kožního exantému většinou dobře koreluje s léčebnou odpovědí [70, 71]. Toto zjištění můžeme potvrdit vlastním pozorováním, kdy jsme prokázali významně delší PFS (3,0 vs. 1,2 měsíce,  $p < 0,001$ ) i OS (13,9 vs. 5,8 měsíce,  $p < 0,001$ ) u pacientů s výsevem exantému v průběhu léčby erlotinibem (**Obrázek 8**) [72]. Účinnost a bezpečnost erlotinibu byly studovány v několika randomizovaných klinických studiích fáze III.



**Obrázek 8** - Srovnání přežití u pacientů léčených erlotinibem, dle výsevu kožního exantému  
*Převzato a upraveno podle: FIALA, O., et al., 2013 [72].*

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 9**). 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 [73].

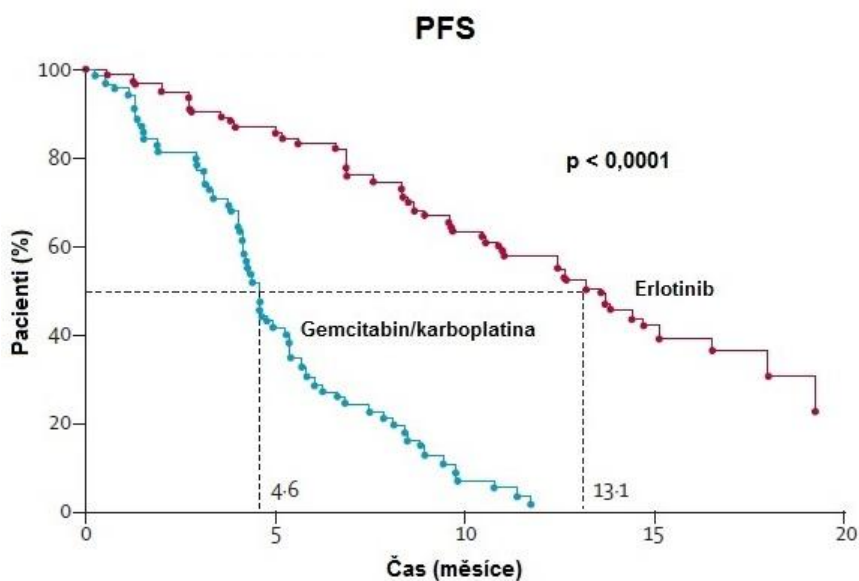




**Obrázek 9** - Srovnání přežití pacientů ve studii BR.21  
*Převzato a upraveno podle: SHEPHERD, F.A., et al., 2005 [73].*

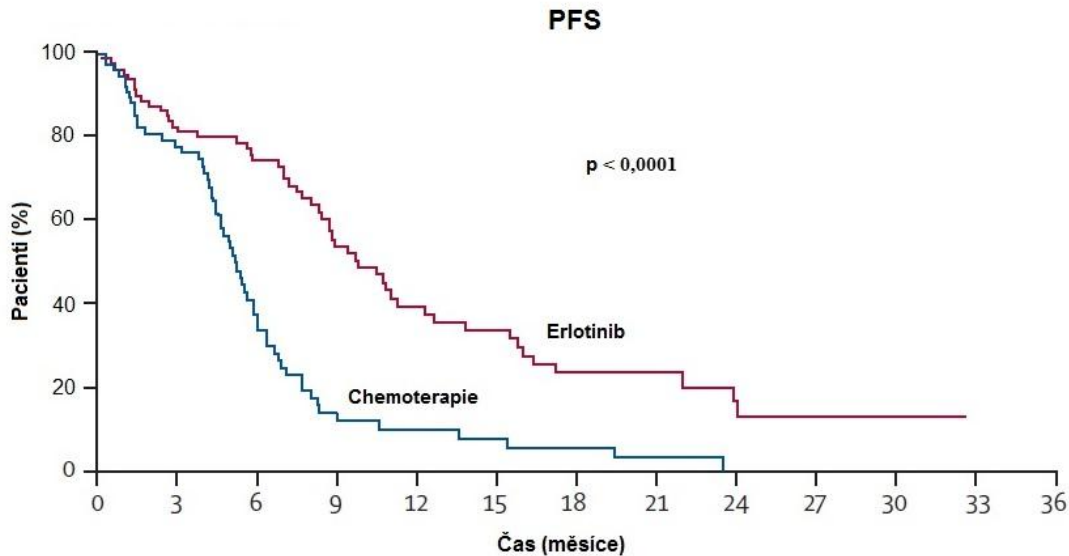
Význam erlotinibu v první linii v porovnání se standardní chemoterapií u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR byl prokázán ve dvou klinických studiích III. fáze, OPTIMAL a EURTAC. Primárním cílem obou studií bylo srovnání přežití bez známek progresse, léčebné 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 10**). Rozdíl v celkovém přežití prokázán nebyl, z důvodu cross-overu. Výsledky studie rovněž potvrdily výrazně lepší profil toxicity erlotinibu [74].



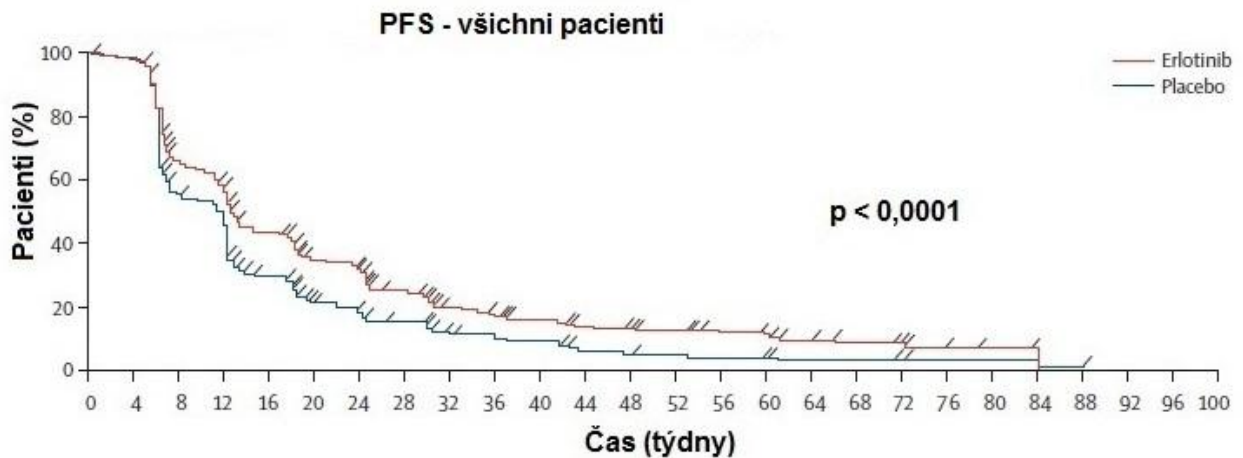
**Obrázek 10** - Srovnání PFS pacientů ve studii OPTIMAL  
*Převzato a upraveno podle: ZHOU, C., et al., 2011 [74].*

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 11**). Rozdíl v celkovém přežití prokázán nebyl, z důvodu cross-overu [75].

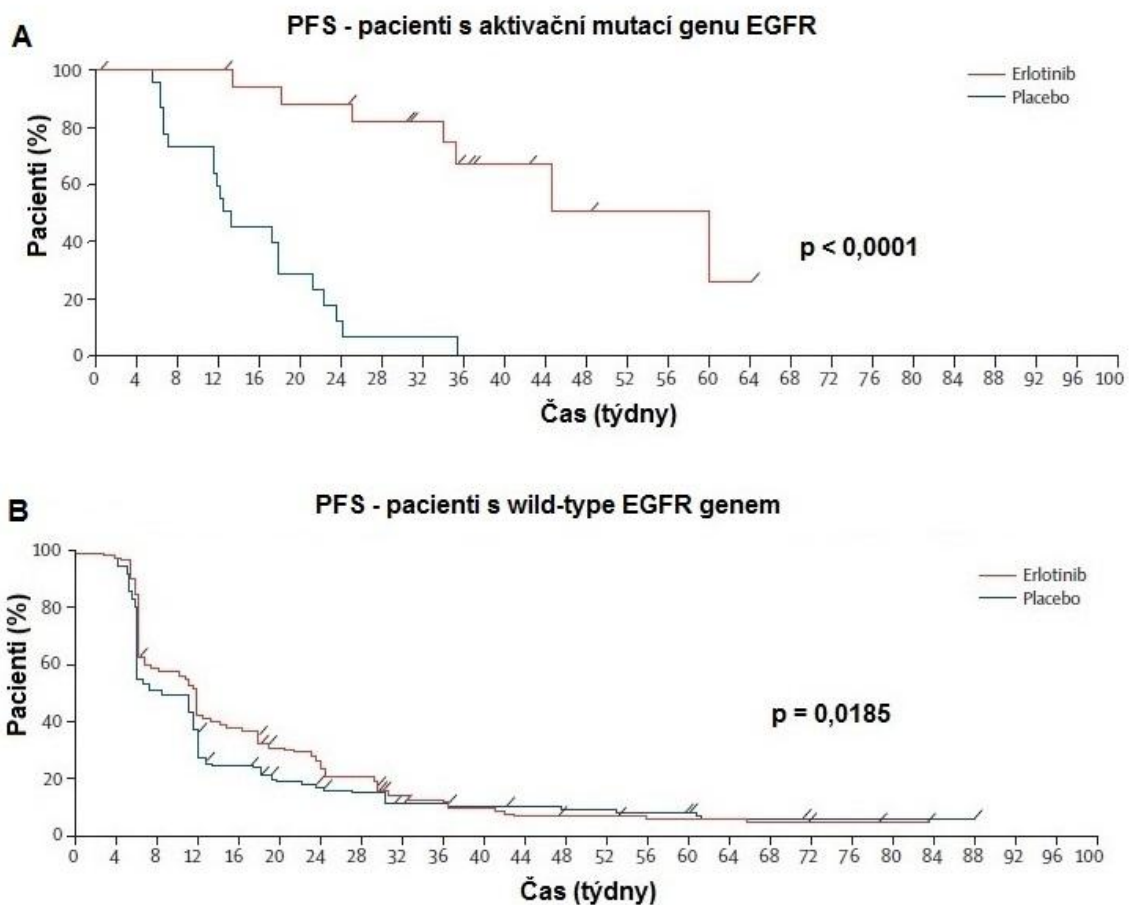


**Obrázek 11** - Srovnání PFS pacientů ve studii EURTAC  
Převzato a upraveno podle: ROSELL, R., et al., 2012 [75].

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 léčby první linie standardním cytostatickým režimem. U pacientů léčených erlotinibem bylo dosaženo prodloužení PFS (11,1 vs. 12,3 měsíce,  $p < 0,0001$ ) (**Obrázek 12**) 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 13A**), nicméně z léčby erlotinibem profitovali i pacienti, kteří byli nositeli *wild-type* EGFR genu (**Obrázek 13B**) [76].



**Obrázek 12** - Srovnání PFS pacientů ve studii SATURN u všech pacientů  
*Převzato a upraveno podle: CAPPUZZO, F., et al., 2010 [76].*

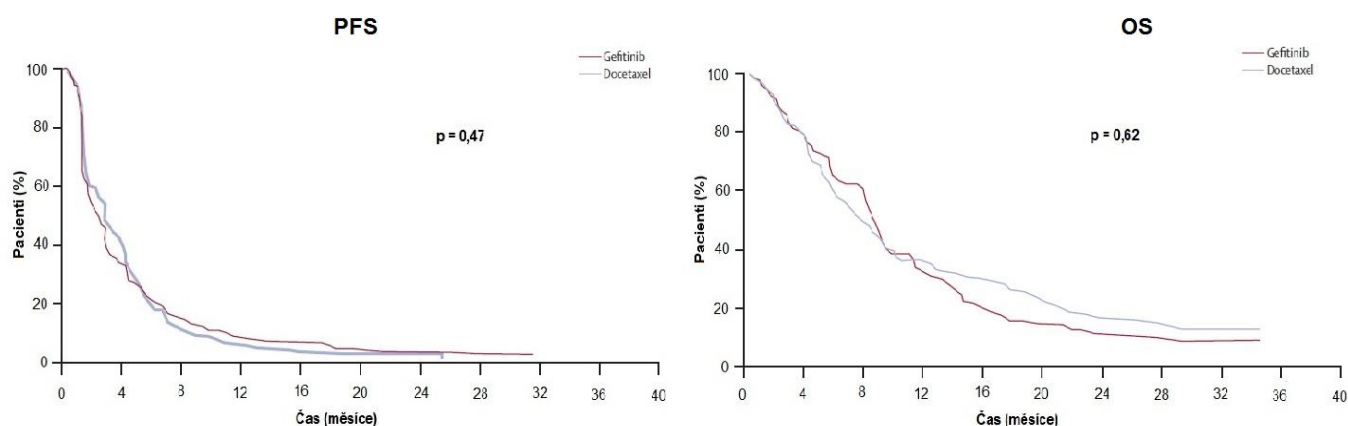


**Obrázek 13** - Srovnání PFS ve studii SATURN u podskupin pacientů – u pacientů s aktivační mutací genu EGFR (**A**) a u pacientů s *wild-type* EGFR genem (**B**)  
*Převzato a upraveno podle: CAPPUZZO, F., et al., 2010 [76].*

### 2.3.3.2.1 Gefitinib

Gefitinib (Iressa®) je perorální nízkomolekulární reverzibilní inhibitor tyrozinkinázy EGFR. Je užíván v dávce 250 mg/den. Gefitinib je indikován k léčbě první linie u pacientů s pokročilým NSCLC, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR. 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.

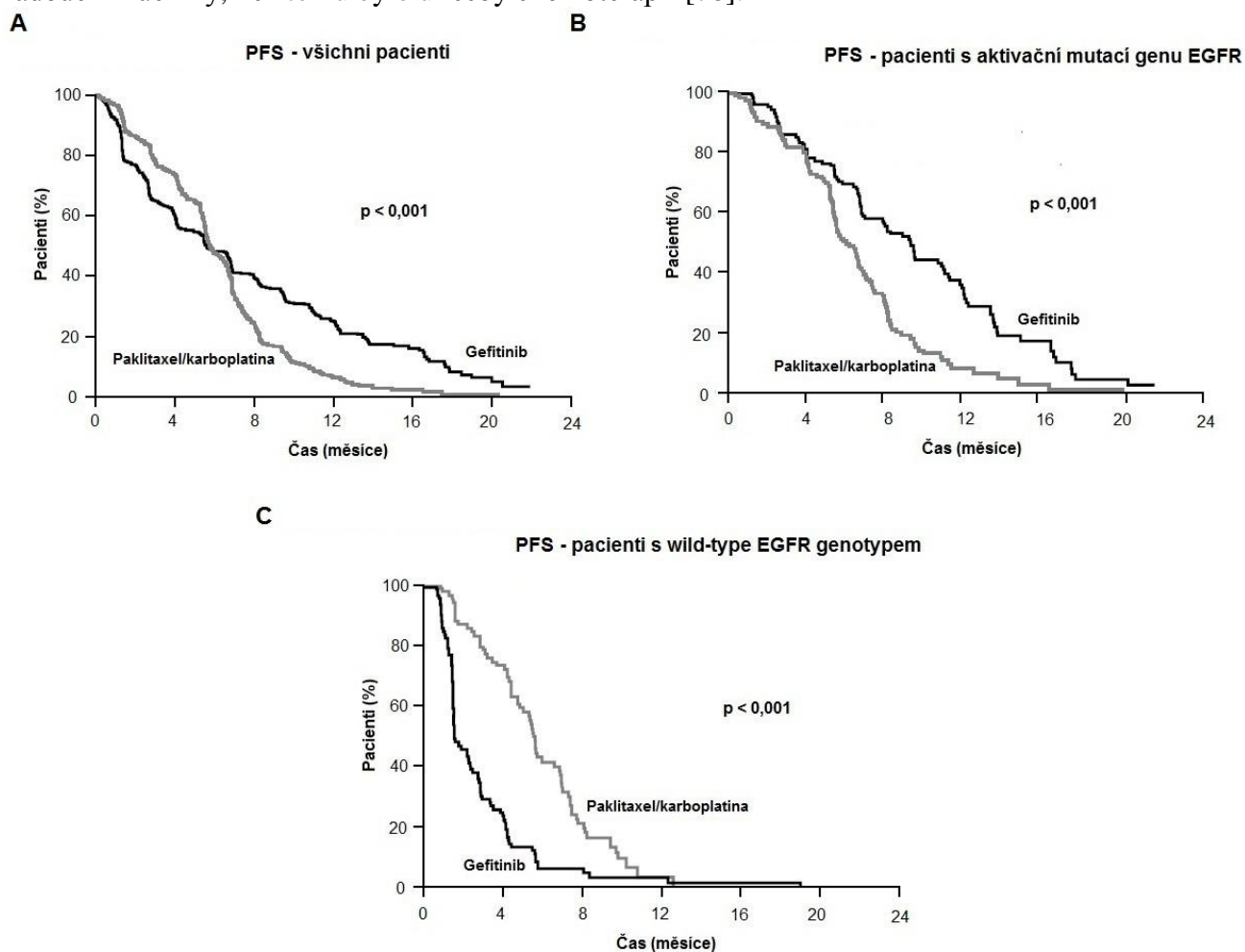
Ve studii **INTEREST** byl gefitinib srovnáván s docetaxelem ve druhé linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC. Výsledky studie prokázaly srovnatelné PFS (2,2 vs. 2,7 měsíce,  $p=0,47$ ) i OS (7,6 vs. 8,0 měsíce,  $p=0,62$ ) (**Obrázek 14**). Bylo však prokázáno větší zlepšení kvality života pacientů 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 [77].



**Obrázek 14** - Srovnání přežití pacientů ve studii INTEREST  
*Převzato a upraveno podle: KIM, E.S., et al., 2008 [77].*

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 15A**). 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 15B**). 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 15C**).

Studie potvrdila lepší tolerabilitu gefitinibu, kdy léčba byla provázena méně často závažnými nežádoucími účinky, než tomu bylo u léčby chemoterapií [78].



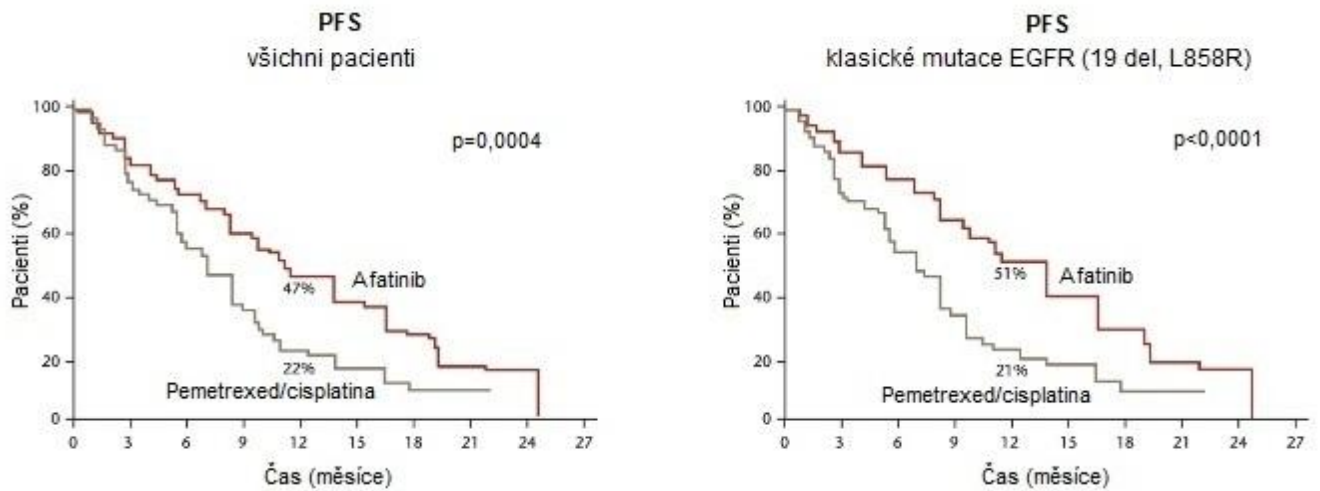
**Obrázek 15** - Srovnání PFS ve studii IPASS u všech pacientů (A), u pacientů s aktivační mutací genu EGFR (B) a u pacientů s *wild-type* EGFR genem (C)  
*Převzato a upraveno podle: MOK, T.S., et al., 2009 [78].*

### 2.3.3.2.3 Afatinib

Afatinib (Gilotrif®) je perorální nízkomolekulární ireverzibilní inhibitor tyrozinkináz receptorů EGFR, HER2 a HER4. Je užíván v dávce 40 mg/den [79]. Afatinib v našich podmínkách zatím není standardně užíván k léčbě pokročilého NSCLC, ale velmi slibné výsledky dosud provedených klinických studií zřejmě brzy povedou k jeho registraci pro užití v této indikaci.

Účinnost a bezpečnost afatinibu byla prokázána v randomizované klinické studii fáze III, **LUX-Lung 3**. V této studii byl srovnáván afatinib oproti chemoterapii cisplatina/pemetrexed v první linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC, u kterých byla prokázána aktivační mutace genu EGFR. Primárním cílem sledování bylo přežití bez známek progresu. Výsledky studie prokázaly významné prodloužení přežití bez známek progresu u pacientů léčených afatinibem (11,1 vs. 6,9 měsíce,  $p=0,0004$ ) oproti pacientům, kteří byli léčeni kombinací cisplatina/pemetrexed. Zajímavým zjištěním bylo, že pokud byli hodnoceni pouze pacienti, kteří byli nositeli tzv. „klasických“ aktivačních mutací genu EGFR (delece na 19. kodonu a bodové

mutace na 21. kodonu, L858R), bylo dosaženo ještě většího prodloužení PFS (13,6 vs. 6,9 měsíce;  $p < 0,0001$ ) (**Obrázek 16**). Nejčastěji popisované nežádoucí účinky byly průjem, papulopustulózní exantém a paronychia [80].



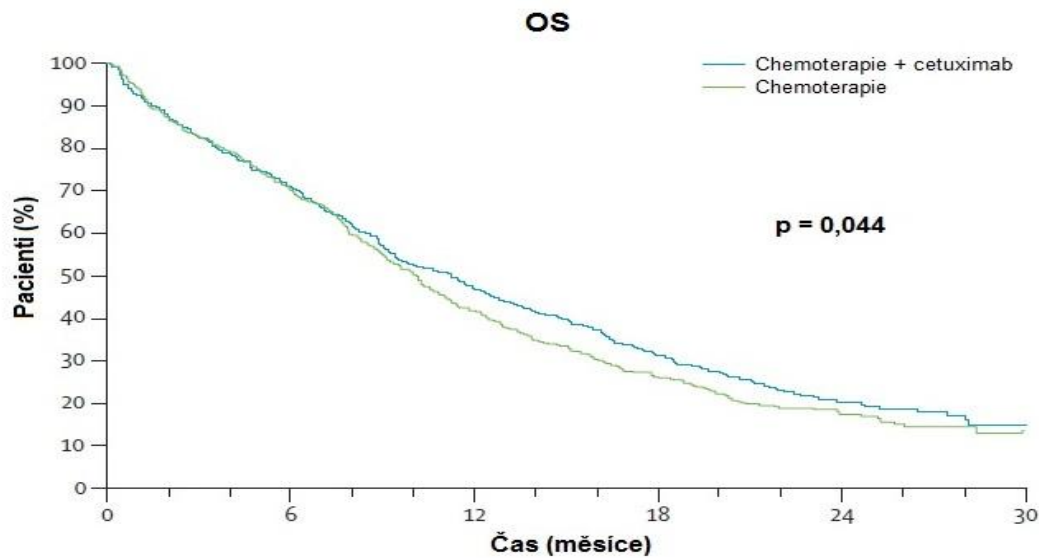
**Obrázek 16** - Srovnání PFS pacientů ve studii Lux-Lung 3  
Převzato a upraveno podle: YANG, J.C-H., et al.2012 [80].

### 2.3.2.3 Cetuximab

Cetuximab (Erbix®) 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, indukci apoptózy a omezení angiogeneze [81]. 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 je cetuximab v klinických studiích většinou kombinován s chemoterapií do maximální dávky 6 cyklů chemoterapie a následně pak podáván v monoterapii do progresu onemocnění. Iničiální dávka cetuximabu je  $400 \text{ mg/m}^2$ , poté je pokračováno dávkou  $250 \text{ mg/m}^2$  týdně. 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 [82]. 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

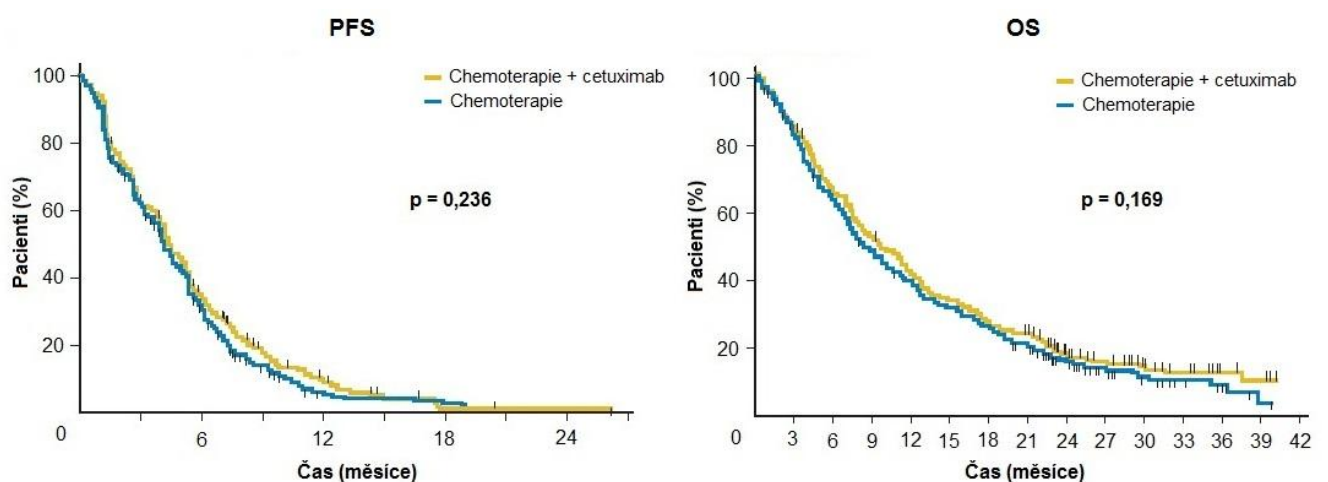
lčených kombinací chemoterapie s cetuximabem (11,3 vs. 10,1 měsíce,  $p=0,044$ ) a uspokojivou tolerabilitu této léčby. Subanalýza zaměřená na hledání potenciálních prediktivních markerů prokázala delší přežívání pacientů, u kterých byla prokázána vysoká exprese EGFR [83].



**Obrázek 17** - Srovnání OS ve studii FLEX

*Převzato a upraveno podle: PIRKER, R., et al., 2011 [83].*

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 pacientů (9,7 vs. 8,4 měsíce,  $p=0,169$ ) (**Obrázek 18**) [84].



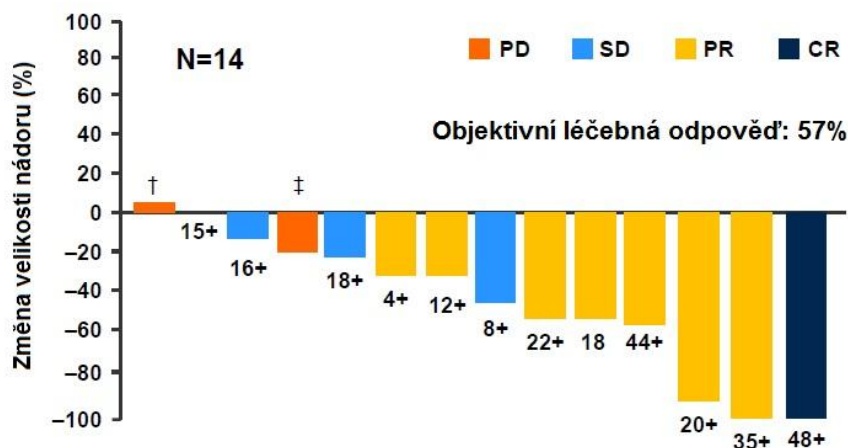
**Obrázek 18** - Srovnání přežití pacientů ve studii BMS099

*Převzato a upraveno podle: LYNCH T.J., et al., 2010 [84].*

### 2.3.3.4 Crizotinib

Crizotinib (Xalcori®) je perorální nízkomolekulární tyrozinkinázový inhibitor ALK (anaplastická lymfomová kináza) a c-Met (tyrozinkináza HGFR), které mají úlohu v regulaci buněčného růstu, migrace a invazivity nádorových buněk i endotelií [85]. Je užíván v dávce 250 mg dvakrát denně ve třítydenních cyklech u pacientů s pokročilým NSCLC, kteří jsou nositeli EML4-ALK fúzního genu. Vznik fúzního genu EML4-ALK představuje genetickou alteraci, která je významným triggerem kancerogeneze u cca 3-4% pacientů s NSCLC [86], právě u těchto pacientů byla prokázána vysoká účinnost léčby crizotinibem. Crizotinib zatím není standardně užíván k léčbě pokročilého NSCLC, ale velmi slibné výsledky dosud provedených klinických studií u geneticky selektované populace pacientů zřejmě brzy povedou k jeho registraci a plnému užití v této indikaci. Účinnost a bezpečnost crizotinibu byla zkoumána v několika klinických studiích fáze II a v současnosti probíhá randomizovaná klinická studie fáze III, PROFILE1007.

Výsledky klinické studie fáze II, PROFILE1005, ukázaly velmi dobré výsledky léčby crizotinibem u pacientů s pokročilým NSCLC, kteří byli nositeli EML4-ALK fúzního genu. Objektivní léčebné odpovědi bylo dosaženo u 53% pacientů, medián přežití bez známek progresu byl 8,5 měsíce a bylo prokázáno významné zlepšení kvality života pacientů. Léčba byla poměrně dobře tolerována. Nejčastěji popisovanými nežádoucími účinky byly nauzea, zvracení a průjem [87]. Novější studie ukázaly, že crizotinib je vysoce účinný také u pacientů s přestavbou genu ROS1 [88] (**Obrázek 19**).



**Obrázek 19** - Léčebná odpověď u pacientů s přestavbou genu ROS1 léčených crizotinibem  
*Převzato a upraveno podle: SHAW, A.T., et al., 2012 [88].*



## 3 Molekulárně-genetické prediktory efektu léčby EGFR-TKI

### 3.1 Mutace genu EGFR

Aktivační mutace genu EGFR vedou ke změnám struktury receptoru většinou v oblasti jeho tyrozinkinázové domény. V důsledku těchto změn dochází k permanentní aktivaci EGFR signálních drah a receptory těchto nádorových buněk tak ztrácejí svojí závislost na ligandu [89, 90]. Aktivační mutace genu EGFR představují významný onkogenní driver u NSCLC. Drtivou většinu (cca 90%) těchto mutací představují dva typy, delece na exonu 19 a bodové 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 [91, 92]. 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 [93-96].

Význam aktivačních mutací genu EGFR jako prediktoru dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI, byl poprvé popsán autory T. J. Lynchem a J. G. Paezem v roce 2004 [97, 98] a následně byl potvrzen řadou dalších prací, včetně velkých klinických studií [76, 99-107]. 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 u pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR, prokázaly výrazně lepší efekt EGFR-TKI [74, 75]. Výsledky těchto studií vedly ke změně doporučení prvoliniové léčby. V současné době tak představují aktivační mutace genu EGFR jediný prediktor efektu léčby EGFR-TKI, který je využíván v klinické praxi pro výběr léčby první linie u pacientů s pokročilým NSCLC, kdy u těchto pacientů je indikována léčba EGFR-TKI [34, 35].

Kromě 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 rezistentní mutace tyrozinkinázové domény EGFR jsou označovány jako T790M, nachází se na exonu 20 a většinou vznikají sekundárně. Tyto mutace jsou velmi často zodpovědné za získanou rezistenci na léčbu EGFR-TKI [108-111]. Mezi další, méně časté, rezistentní EGFR mutace lokalizované na 20. exonu patří 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 důsledkem těchto mutací je 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 [112-114]. Význam těchto mutací pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u 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 [115]. Nomenklatura v české, ale ani světové, literatuře zatím 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.

## 3.2 Exprese genu EGFR

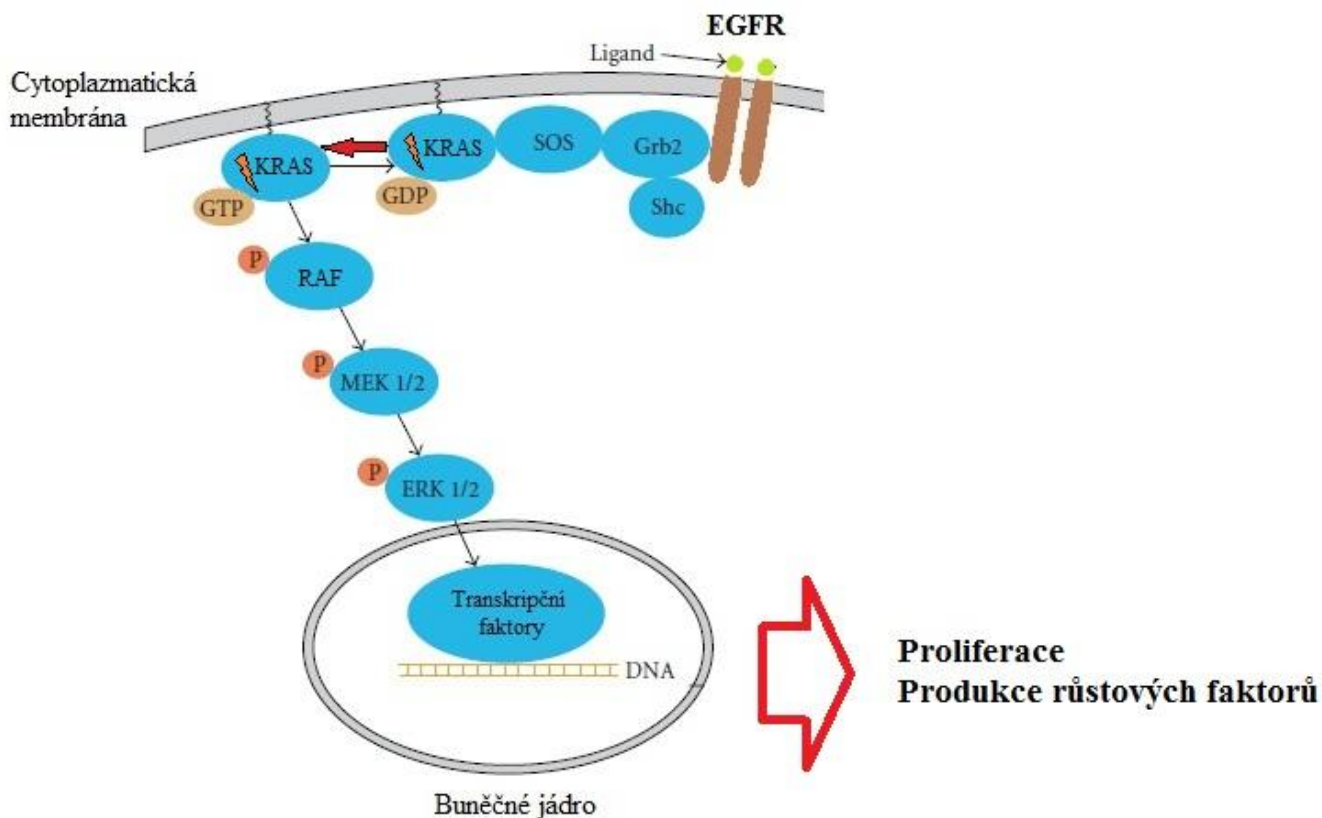
Zvýšená exprese genu EGFR je velmi často nalézána u nádorových buněk NSCLC (cca 40-80%) [116] a většinou bývá spojována s agresivním chováním nádoru a nepříznivou prognózou těchto pacientů [105, 117]. Význam overexprese EGFR pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u NSCLC dosud nebyl jednoznačně objasněn, přesto že se jedná o biomarker, kterému byla zpočátku věnována velká pozornost. V minulosti byly publikovány práce, které ukazovaly význam overexprese jako prediktoru dobré odpovědi na léčbu EGFR-TKI [104, 118, 119], na druhou stranu však byly publikovány práce, které tuto hypotézu nepotvrdily [120, 121].

## 3.3 Amplifikace genu EGFR

Amplifikace genu (neboli vysoká polysomie) znamená zmnožení počtu genu v buňce. Amplifikace genu je velmi často 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 [104]. Bylo prokázáno, že výskyt EGFR amplifikací je častý u pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR [118, 122-124]. 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. Většina publikovaných prací popisuje amplifikace genu EGFR jako potenciální prediktor dobrého efektu léčby EGFR-TKI [118, 119, 125, 126]. Výsledky rozsáhlé 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 [127]. Na druhou stranu však nelze opominout fakt, že byly publikovány i práce, které prediktivní význam amplifikace genu EGFR nepotvrdily [118, 128].

## 3.4 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 [129, 130]. Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu ukazuje **Obrázek 20**.



**Obrázek 20** - Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu  
*Převzato a upraveno podle: JANCÍK S., et al, 2010 [130].*

Mutace genu KRAS představují významný onkogenní driver u řady nádorových onemocnění [131]. 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 [131-133]. U NSCLC byla mutace KRAS poprvé popsána E. Santosem v roce 1984 [134]. Mutace genu KRAS vede ke strukturálním změnám tohoto proteinu, jejichž důsledkem je zejména pokles GTPázové aktivity KRAS proteinu a tak ztráta jeho schopnosti vlastní inaktivace. Kontinuální aktivace KRAS vede k permanentní aktivaci signálních drah EGFR signální dráhy. KRAS mutace se obvykle vyskytují na kodonech 12 a 13, vzácně na kodonech 61, 63, 117, 119, a 146 [135-137]. 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%) [138, 139]. Přítomnost KRAS mutace je u NSCLC velmi často spojována s kouřením [140, 141].

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 [142-144]. Význam mutací genu KRAS pro predikci účinku EGFR-TKI u NSCLC je dosud nejasný. Bylo publikováno několik prací, které ukazují

mutace KRAS jako negativní prediktor efektu léčby EGFR-TKI [100, 145, 146], 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 [103, 105-107]. 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 s typem mutace KRAS [147, 148] a v poslední době byly publikovány některé práce, které ukazují rozdílnou odpověď na chemoterapii nebo cílenou léčbu podle specifického typu KRAS mutace [149-151].

### 3.5 Amplifikace genu MET

MET je tyrozinkinázový receptor, jehož přirozeným ligandem je HGF. Aktivace MET spouští několik signálních drah, které významným způsobem ovlivňují růst, přežívání i metastazování nádorových buněk [152]. Amplifikace genu MET je u NSCLC spojena s rezistencí k léčbě EGFR-TKI [153]. Ve většině případů se jedná o rezistenci vzniklou sekundárně [154]. 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.

### 3.6 Exprese a amplifikace genu HER2

HER2 (ErbB2) patří mezi transmembránové receptory rodiny HER. Významnou roli sehrává zejména v procesu heterodimerizace při aktivaci EGFR, kde se uplatňuje jako koreceptor. Zvýšená exprese HER2 u NSCLC bývá spojena s agresivním chováním nádoru a nepříznivou prognózou [155]. Exprese 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 [156].

### 3.7 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 5**). 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 PI3K (PI3KCA), nebo ztrátou exprese tumor supresorového genu PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog*), který defosforylací blokuje aktivaci této signální dráhy. Prediktivní význam mutací a amplifikací genu PI3KCA u NSCLC je v současné době studován, zatím bez dosažení jednoznačného konsenzu. Některé práce ukazují, že mutace PI3KCA vedou k rezistenci na EGFR-TKI [157]. Mutace genu PI3KCA 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 [158]. Ztráta exprese genu PTEN je rovněž spojována s rezistencí k EGFR-TKI [159].

# ŘEŠENÍ VLASTNÍ STUDIE

---

## 1 Cíl

Tato práce byla zaměřena na zmapování výskytu a významu vybraných molekulárně-genetických biomarkerů v souboru pacientů s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC. Práce je rozdělena na dvě části.

První část práce je zaměřena na zmapování výskytu aktivačních mutací genu EGFR a mutací genu KRAS u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC a rovněž na zjištění prediktivního významu těchto biomarkerů u pacientů léčených EGFR-TKI.

Druhá část práce je zaměřena na praktický význam genetického testování při rozhodování o léčbě první linie u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Jedná se o retrospektivní studii, která porovnává efektivitu a bezpečnost chemoterapie a EGFR-TKI u pacientů, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR.

## 2 Aktivační mutace genu EGFR a mutace genu KRAS

### 2.1 Metody

#### 2.1.1 Soubor pacientů

Do retrospektivní studie byli zařazeni pacienti s cytologicky nebo histologicky verifikovaným NSCLC, lokoregionálně pokročilého nebo metastatického stadia (stadium IIIB, IV). Pacienti byli léčeni v letech 2002-2011 na Klinice pneumologie a ftizeologie FN a LF UK Plzeň. Vyšetření na přítomnost aktivační mutace genu EGFR (delece na 19. exonu a bodová mutace na 21. exonu, L858R) bylo provedeno celkem u 613 pacientů, z toho u 448 pacientů bylo rovněž provedeno vyšetření na přítomnost mutace genu KRAS. Z celkového počtu pacientů vyšetřených na aktivační mutace genu EGFR bylo 410 pacientů léčeno EGFR-TKI (erlotinib nebo gefitinib, u 1 pacienta došlo ke změně preparátu z důvodu intolerance). Souhrnná charakteristika souboru pacientů je uvedena v **Tabulce 5**. V podsouboru pacientů vyšetřených na aktivační mutace genu EGFR i mutace genu KRAS bylo 351 pacientů léčeno EGFR-TKI (erlotinib nebo gefitinib). Souhrnná charakteristika tohoto podsouboru pacientů je uvedena v **Tabulce 6**.

#### 2.1.2 Léčba a sledování follow-up

Léčba pacientů probíhala standardním způsobem, včetně standardního dávkování léčiv (erlotinib: 150 mg/den p.o., gefitinib: 250 mg/den p.o.) a pravidelných kontrol v 3-4 týdenních intervalech. Tyto pravidelné kontroly zahrnovaly klinické a laboratorní vyšetření a rovněž kontrolu skiagramu hrudníku. Ve 2-3 měsíčních intervalech bylo prováděno kontrolní CT nebo PET/CT, případně doplněné o kontrolní bronchoskopické vyšetření. Léčba byla ukončena při zjištění progresu onemocnění, případně při výskytu závažných nežádoucích účinků. Přežití bez známek progresu (*progression-free survival* – PFS) bylo počítáno od doby zahájení léčby EGFR-TKI do prvního zjištění progresu onemocnění, případně úmrtí v souvislosti s nádorovým onemocněním. Progrese byla hodnocena nezávislým radiologem na základě kritérií RECIST [160]. Celkové přežití (*overall survival* – OS) bylo počítáno od doby zahájení léčby EGFR-TKI do úmrtí nebo ztráty follow-up.

### **2.1.3 Molekulárně-genetické vyšetření**

Vzorky tumorózní tkáň byly získávány v průběhu bronchoskopického vyšetření, případně jako resekáty. Vzorky byly procesovány buď jako cytologické nátěry nebo formalínem fixované bločky. Oblasti nádorových buněk byly vždy viditelně označeny. U vzorků s nízkým poměrem nádorových buněk k buňkám nenádorovým byly nádorové buňky selektivně extrahovány metodou laserové mikrodisekce s použitím přístroje PALM Microlaser (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Německo). Genomová DNA byla izolována pro mutační analýzu standardní kolonkovou metodou s použitím kitu JetQuick tissue kit (Genomed, G.m.b.H, Loehne, Německo). Přítomnost delece na exonu 19 genu EGFR, bodové mutace na exonu 21 genu EGFR (L858R) a mutací genu KRAS na exonu 1 (kodony 12 a 13) byla detekována použitím vysoce citlivé metody denaturační kapilární elektroforézy (denaturing capillary electrophoresis, DCE) pomocí Genoscan EGFR a Genoscan KRAS kitů (Genomac International, Praha, Česká republika). Tato metoda je založena na kapilárně-elektroforetické separaci heteroduplexů za podmínek jejich částečné denaturace. Postup vyšetření sestává ze tří hlavních kroků, kterými jsou: izolace DNA, PCR amplifikace a analýza na sekvenátoru. Denaturační kapilární elektroforéza byla prováděna na 96-kapilárním sekvenátoru (MegaBACE 1000, GE Biosciences, New Jersey, USA) vybaveném robotickým podavačem vzorků Caddy 1000 (Watrex Praha, Praha, Česká Republika) umožňujícím automatický provoz analyzátoru. Všechny nalezené mutace byly dále potvrzeny přímým sekvenováním DNA, s užitím premixu BigDye v. 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Ve vzácných případech, kdy celkový podíl mutované DNA byl pod 20% minimum nutné pro DNA sekvenování, byl typ mutace potvrzen nepřímo po vytvoření dokonalého dvouvláknového homoduplexu se známým typem mutace referenční.

### **2.1.4 Statistické zpracování**

Kategoriální proměnné byly charakterizovány četností výskytu jednotlivých kategorií a příslušným procentuálním zastoupením. Spojité proměnné byly sumarizovány pomocí popisné statistiky (průměr, medián). Statistická významnost rozdílů v incidenci mutací ve vybraných skupinách pacientů byla stanovena s použitím Fisherova exaktního testu. PFS a OS byly vypočteny Kaplan-Meierovou metodou. Ke všem bodovým odhadům byly doplněny 95% intervaly spolehlivosti. Statistická významnost rozdílu v přežití mezi podskupinami pacientů byla stanovena pomocí log-rank testu.

**Tabulka 5** - Charakteristika souboru pacientů vyšetřených na přítomnost aktivační mutace genu EGFR

	Vyšetření pacienti (N = 613)		Vyšetření pacienti, léčení EGFR-TKI (N = 410)	
<b>Pohlaví</b>				
Ženy	228	37,19%	155	37,80%
Muži	385	62,81%	255	62,20%
<b>Věk</b>				
Medián	64		64	
Průměr	63		63	
<b>Kouření</b>				
Nekuřák	127	20,72%	85	20,73%
Kuřák, bývalý kuřák	453	73,90%	308	75,12%
Neznámo	33	5,38%	17	4,15%
<b>Histologický typ</b>				
Adenokarcinom	362	59,06%	231	56,35%
Skvamózní karcinom	198	32,30%	147	35,85%
NOS NSCLC	53	8,64%	32	7,80%
<b>EGFR-TKI léčba</b>				
Erlotinib			218	53,20%
Gefitinib			191	46,60%
Erlotinib, gefitinib (změna pro intoleranci)			1	0,20%

**Tabulka 6** - Charakteristika souboru pacientů vyšetřených na přítomnost aktivační mutace genu EGFR a mutace genu KRAS

	Vyšetření pacienti (N = 448)		Vyšetření pacienti, léčení EGFR-TKI (N = 351)	
<b>Pohlaví</b>				
Ženy	165	36,83%	133	37,89%
Muži	283	63,17%	218	62,11%
<b>Věk</b>				
Medián	64		64	
Průměr	63		64	
<b>Kouření</b>				
Nekuřák	103	22,99%	85	23,65%
Kuřák, bývalý kuřák	330	73,66%	259	73,79%
Neznámo	15	3,35%	7	2,56%
<b>Histologický typ</b>				
Adenokarcinom	233	52,00%	190	54,13%
Skvamózní karcinom	143	31,92%	128	36,47%
NOS NSCLC	72	16,07%	33	9,40%
<b>EGFR-TKI léčba</b>				
Erlotinib			182	51,85%
Gefitinib			169	48,15%

## 2.2 Výsledky

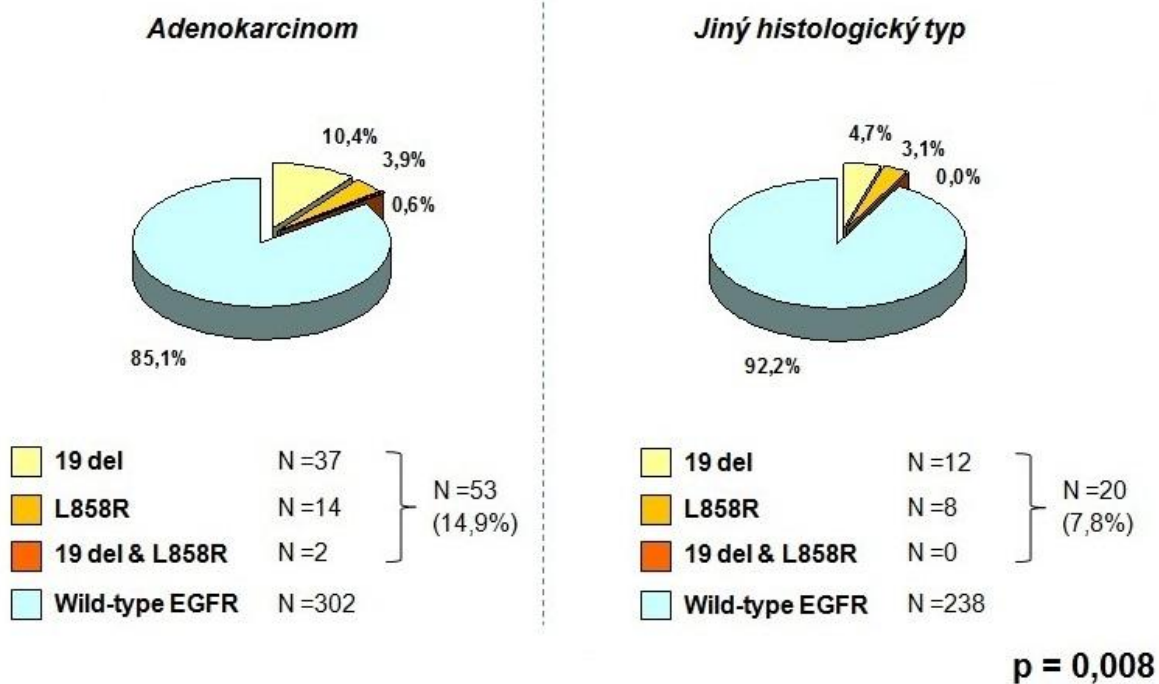
### 2.2.1 Výskyt aktivačních mutací genu EGFR v populaci

Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány celkem u 73 vyšetřených pacientů (11,9%), 540 (88,1%) pacientů bylo nositeli *wild-type* EGFR genu. Delece na 19. exonu byla zjištěna u 49 pacientů (8,0%), bodová mutace na 21. exonu (L858R) byla zjištěna u 22 pacientů (3,6%), obě mutace byly zjištěny u 2 pacientů (0,3%) (**Obrázek 21**). Ve skupině pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR bylo 54 pacientů s adenokarcinomem, 16 pacientů se skvamózním karcinomem a 3 pacienti s NOS NSCLC, 27 mužů, 46 žen, 32 pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou a 38 celoživotních nekuřáků. Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 14,9% (54/362) pacientů s adenokarcinomem a u 7,8% (19/251) pacientů s jiným histologickým typem NSCLC (**Obrázek 22**). Rozdíl ve výskytu aktivačních mutací genu EGFR mezi adenokarcinomem a jinými histologickými typy NSCLC byl statisticky signifikantní ( $p=0,008$ ). Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 7,5% pacientů se skvamózním karcinomem. Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 20,2% (46/228) žen a u 7,1% (27/385) mužů (**Obrázek 23**). Rozdíl ve výskytu EGFR mutací mezi oběma pohlavími byl statisticky signifikantní ( $p<0,001$ ). Aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 29,9% (38/127) nekuřáků a u 7,0% (32/453) pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou (**Obrázek 24**). Rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p<0,001$ ).

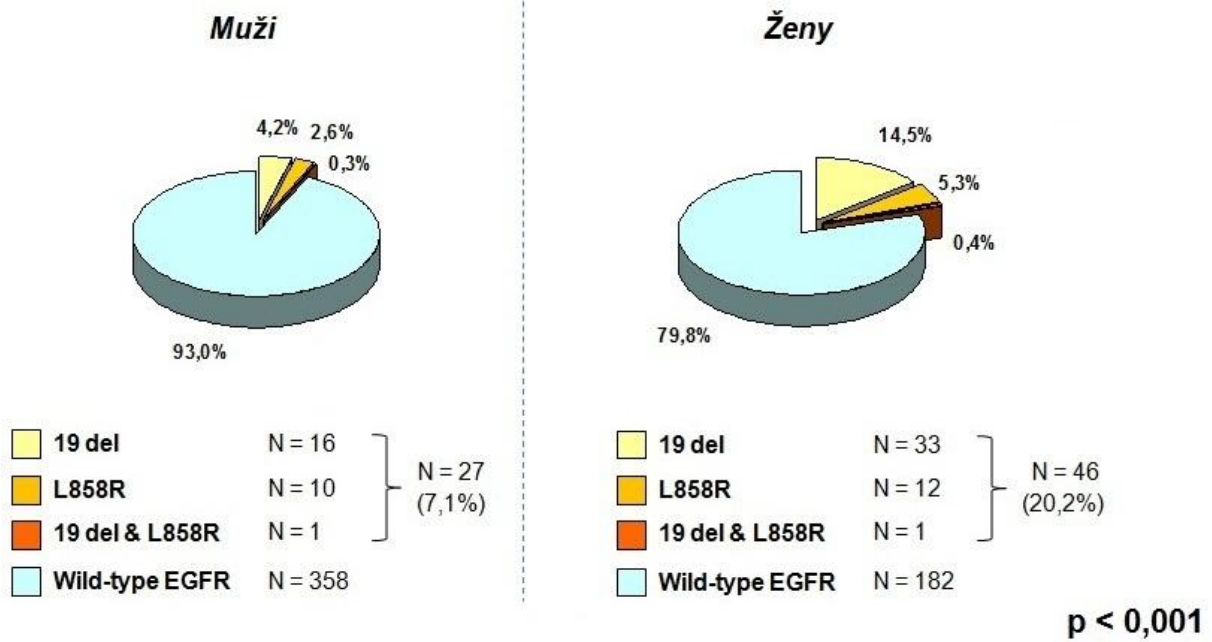




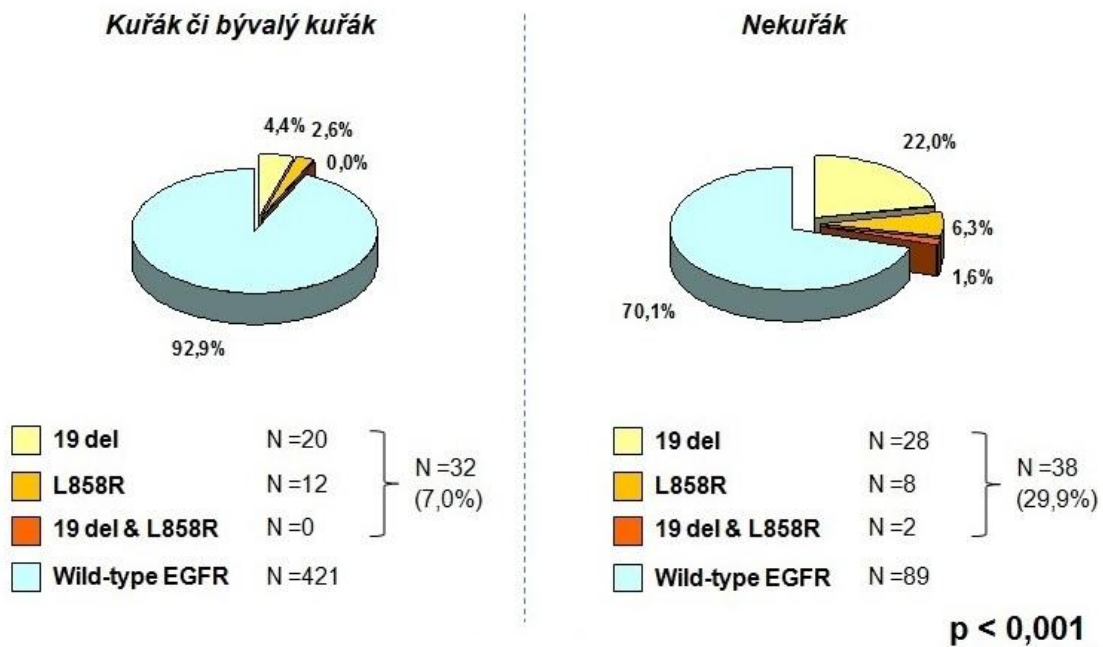
**Obrázek 21** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR a jejich typů u pacientů s NSCLC



**Obrázek 22** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle histologického typu NSCLC



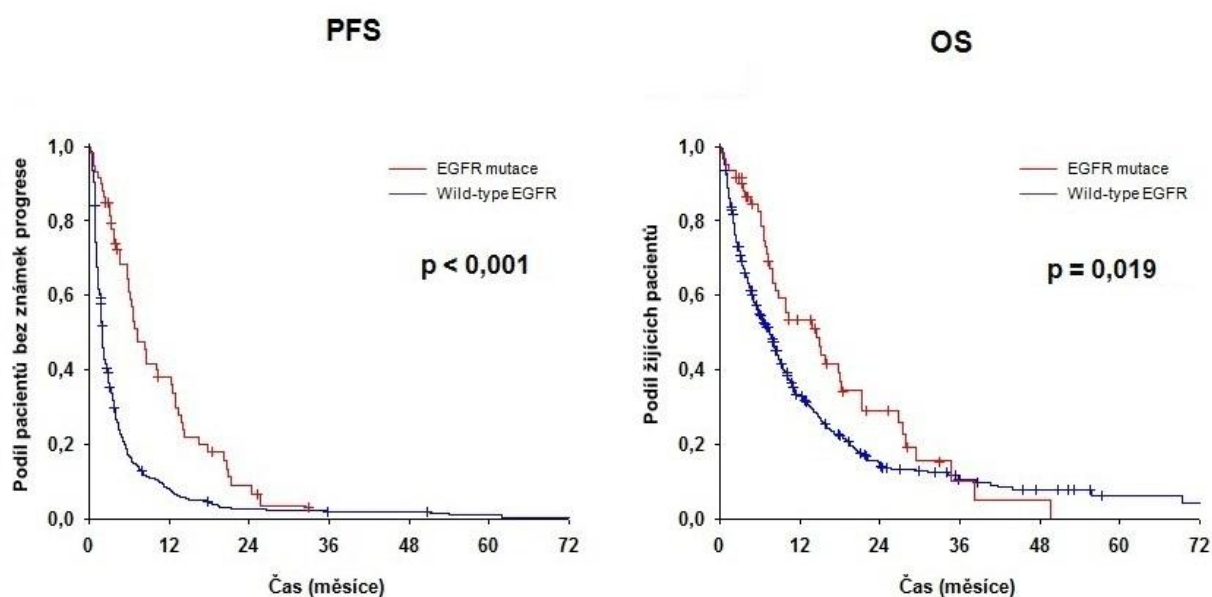
**Obrázek 23** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle pohlaví



**Obrázek 24** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle kuřáctví

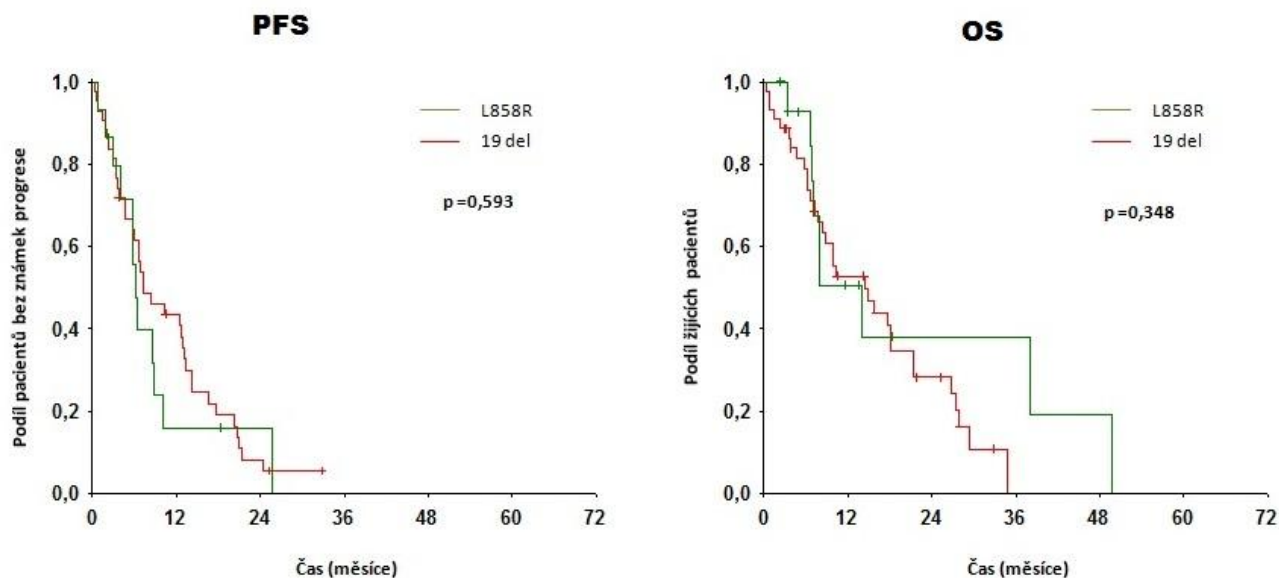
## 2.2.2 Prediktivní význam aktivačních mutací genu EGFR

Medián PFS u pacientů s aktivační mutací genu EGFR činil 7,2 vs. 2,0 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p < 0,001$ ). Medián OS u pacientů s aktivační mutací genu EGFR činil 14,5 vs. 7,5 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p = 0,019$ ) (**Obrázek 25**).



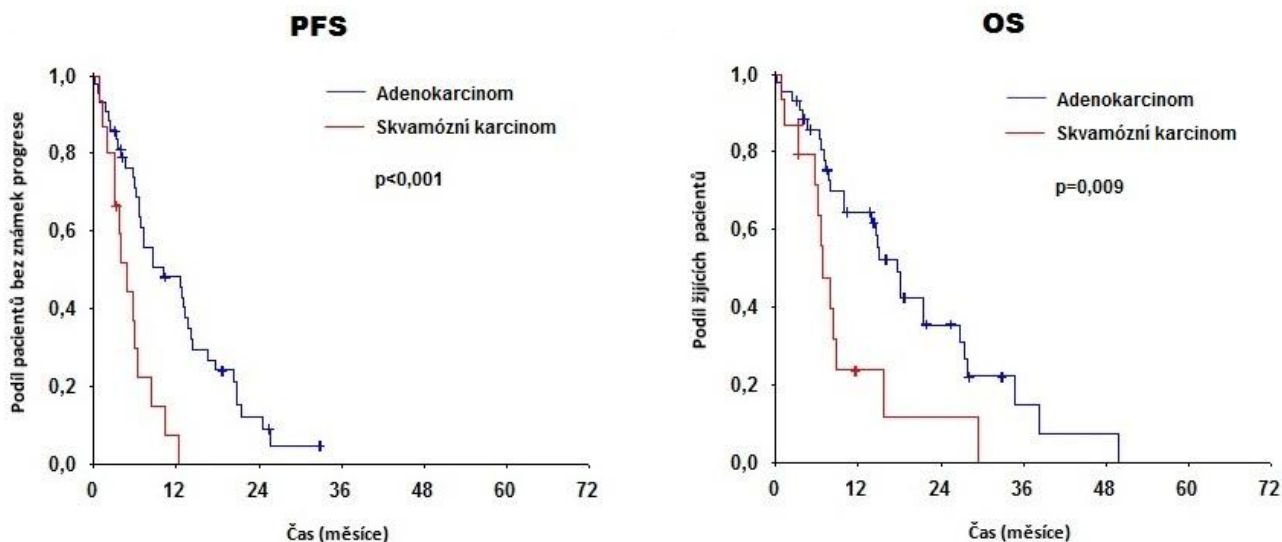
**Obrázek 25** - Srovnání přežití mezi pacienty s aktivační mutací genu EGFR a pacienty s *wild-type* EGFR genem

Medián PFS u pacientů s delecí na 19. exonu činil 7,3 vs. 6,1 měsíce u pacientů s bodovou mutací na 21. exonu [L858R], rozdíl nebyl statisticky signifikantní ( $p = 0,593$ ). Medián OS u pacientů s delecí na 19. exonu činil 14,5 vs. 13,9 měsíce u pacientů s bodovou mutací na 21. exonu [L858R], rozdíl nebyl statisticky signifikantní ( $p = 0,348$ ) (**Obrázek 26**).



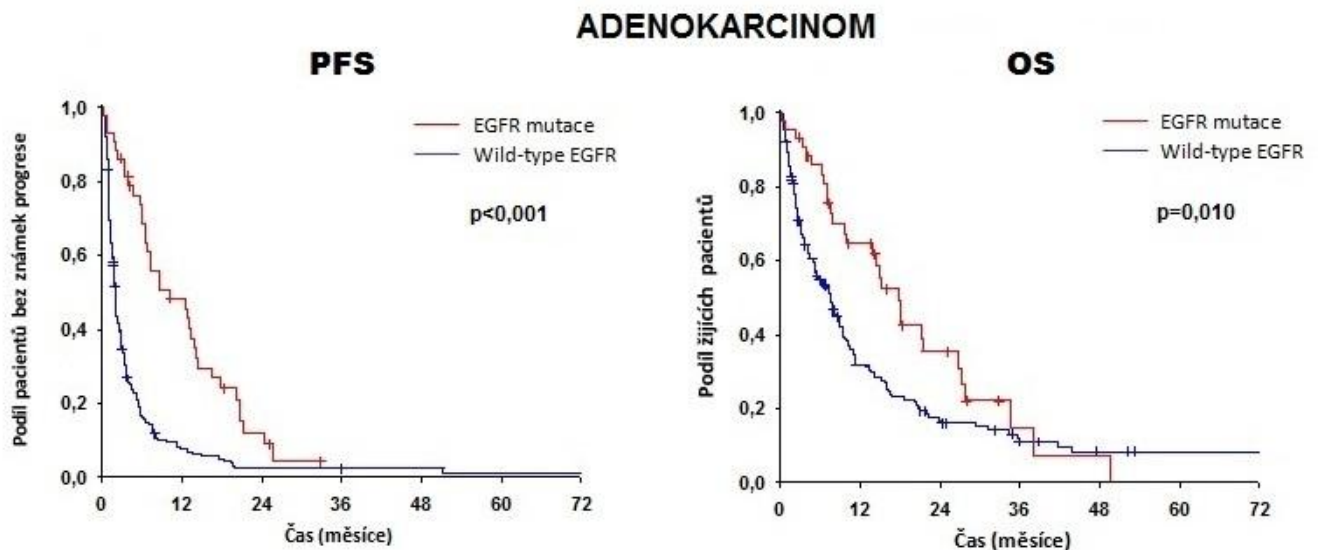
**Obrázek 26** - Srovnání přežití mezi pacienty s delecí na 19. exonu a pacienty s bodovou mutací na 21. exonu [L858R]

Medián PFS u nositelů aktivační mutace genu EGFR s adenokarcinomem činil 10,2 vs. 4,7 měsíce u nositelů aktivační mutace genu EGFR se skvamózním karcinomem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p < 0,001$ ); medián OS u nositelů aktivační mutace genu EGFR s adenokarcinomem činil 17,7 vs. 6,8 měsíce u nositelů aktivační mutace genu EGFR se skvamózním karcinomem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p = 0,009$ ) (**Obrázek 27**).

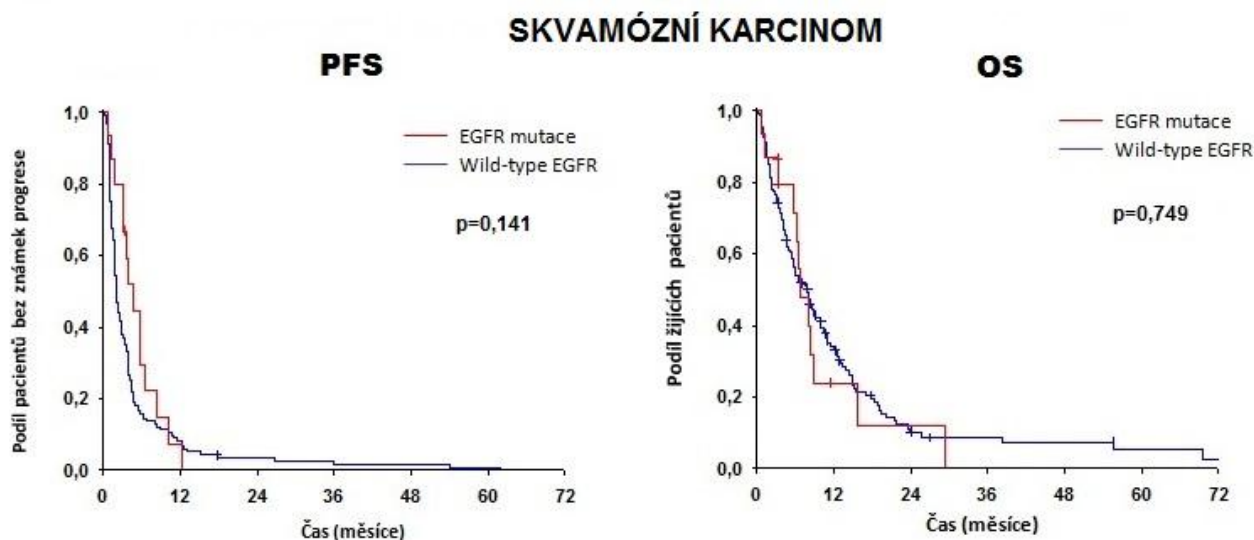


**Obrázek 27** - Srovnání přežití pacientů s aktivační mutací genu EGFR podle histologického typu (adenokarcinom vs. skvamózní karcinom)

Mezi pacienty s adenokarcinomem činil medián PFS u nositelů aktivační mutace genu EGFR 10,2 vs. 1,9 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p < 0,001$ ); medián OS u nositelů aktivační mutace genu EGFR činil 17,7 vs. 7,5 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p = 0,010$ ) (**Obrázek 28**). Mezi pacienty se skvamózním karcinomem činil medián PFS u nositelů aktivační mutace genu EGFR 4,7 vs. 2,1 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl nebyl statisticky signifikantní ( $p = 0,141$ ); medián OS u nositelů aktivační mutace genu EGFR činil 6,8 vs. 7,8 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR genem, rozdíl nebyl statisticky signifikantní ( $p = 0,749$ ) (**Obrázek 29**).



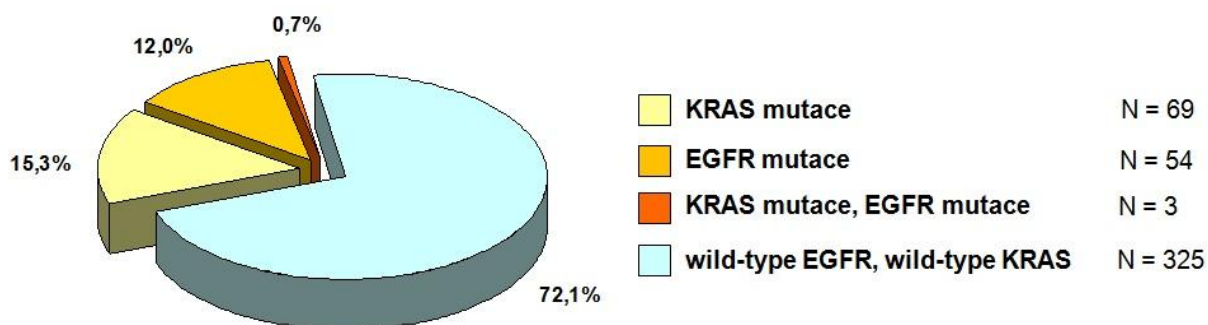
**Obrázek 28** - Srovnání přežití podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR u pacientů s adenokarcinomem



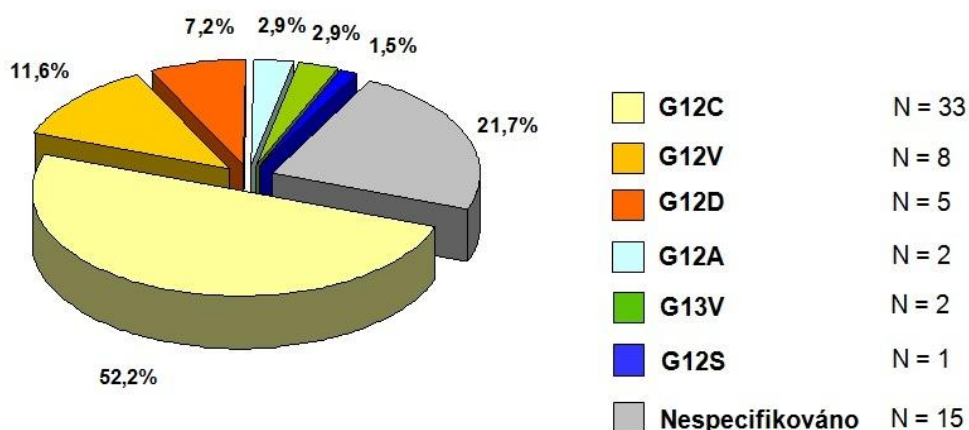
**Obrázek 29** - Srovnání přežití podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR u pacientů se skvamózním karcinomem

### 2.2.3 Výskyt mutací genu KRAS v populaci

Mutace genu KRAS byly prokázány celkem u 69 (15,3%) vyšetřených pacientů, aktivační mutace genu EGFR byly prokázány u 54 (12%) pacientů a 325 (72,1%) pacientů bylo nositeli *wild-type* KRAS a *wild-type* EGFR genu (**Obrázek 30**). U 3 (0,7%) pacientů byl prokázán raritní současný výskyt mutace genu KRAS i aktivační mutace genu EGFR. Co se týče specifického typu mutace genu KRAS, mutace typu G12C byla zjištěna u 33 (52,2%) pacientů, mutace typu G12V byla zjištěna u 8 (11,6%) pacientů, mutace typu G12D byla zjištěna u 5 (7,2%) pacientů, mutace typu G12A byla zjištěna u 2 (2,9%) pacientů, mutace typu G13V byla zjištěna u 2 (2,9%) pacientů, mutace typu G12S byla zjištěna u 1 (1,5%) pacienta a u 15 (21,7%) pacientů nebyl typ KRAS mutace blíže specifikován (**Obrázek 31**).

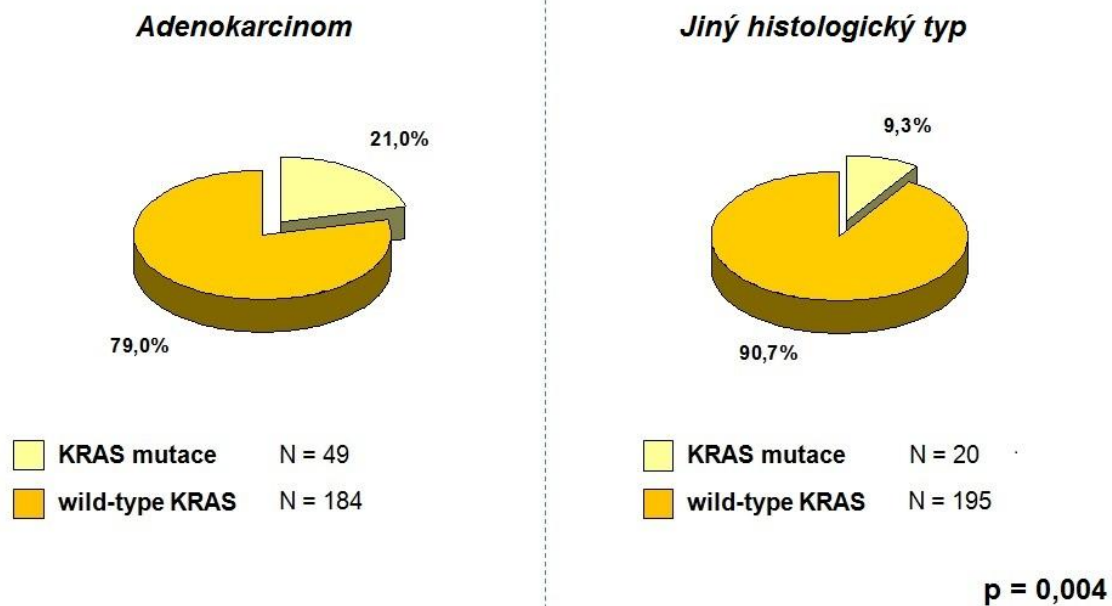


**Obrázek 30** - Sumarizace výskytu aktivačních mutací genu EGFR a mutací genu KRAS u pacientů s NSCLC

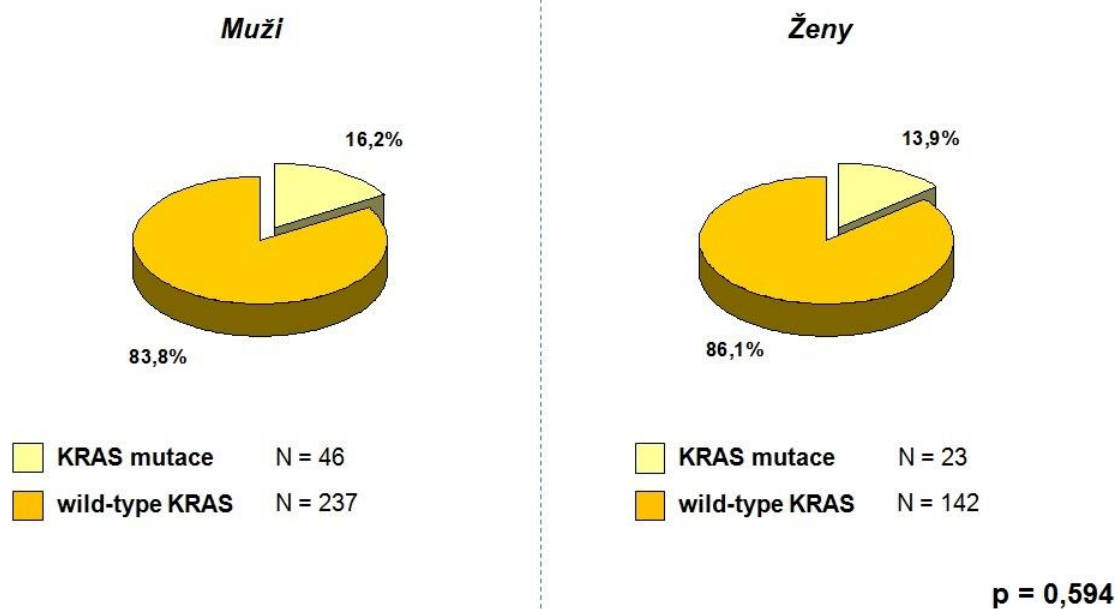


**Obrázek 31** - Typy mutace genu KRAS u pacientů s NSCLC

Ve skupině pacientů s prokázanou mutací genu KRAS bylo 49 pacientů s adenokarcinomem, 10 pacientů se skvamózním karcinomem a 5 pacientů s NOS NSCLC, 46 mužů, 23 žen, 59 pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou a 6 celoživotních nekuřáků. Mutace genu KRAS byla prokázána u 21% (49/233) pacientů s adenokarcinomem *vs.* u 9,3% (20/215) pacientů s jiným histologickým typem NSCLC. Rozdíl ve výskytu KRAS mutací mezi adenokarcinomem a jinými histologickými typy NSCLC byl statisticky signifikantní ( $p=0,004$ ) (**Obrázek 32**). KRAS mutace byla prokázána u 13,9% (23/165) žen *vs.* u 16,2% (46/283) mužů. Rozdíl ve výskytu KRAS mutací mezi oběma pohlavími nebyl statisticky signifikantní ( $p=0,594$ ) (**Obrázek 33**). KRAS mutace byla prokázána u 5,8% (6/103) nekuřáků *vs.* u 17,9% (59/330) pacientů s pozitivní kuřáckou anamnézou. Rozdíl byl statisticky signifikantní ( $p=0,006$ ) (**Obrázek 34**).

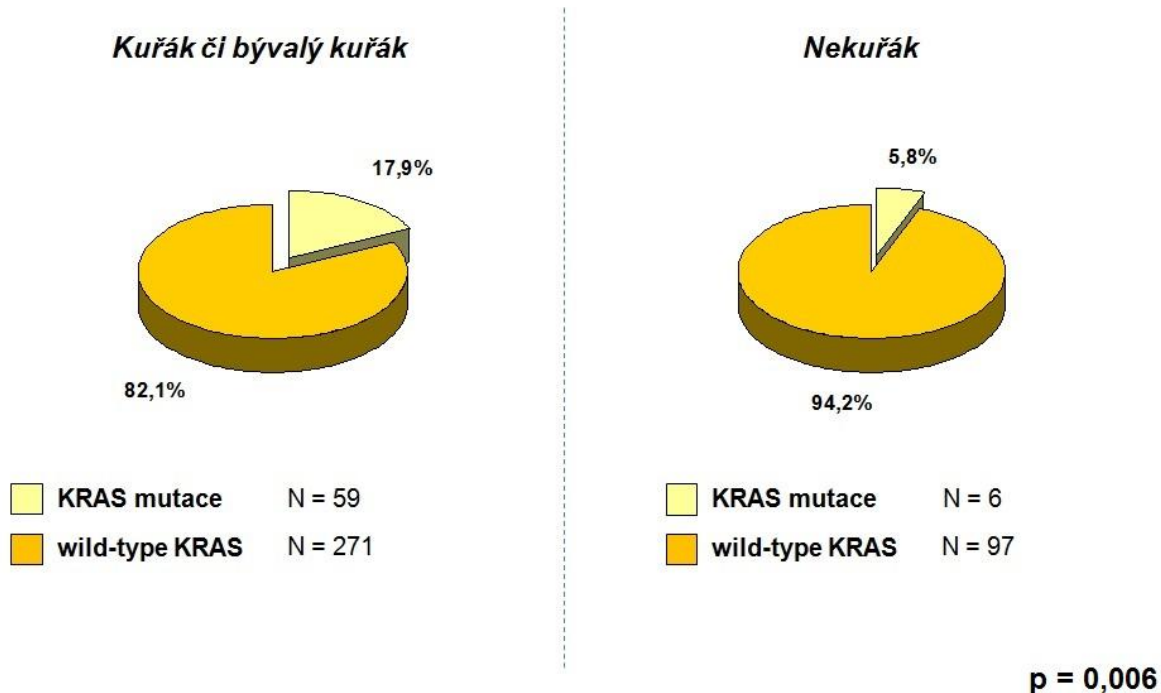


**Obrázek 32** - Výskyt mutací genu KRAS podle histologického typu NSCLC



**Obrázek 33** - Výskyt mutací genu KRAS podle pohlaví

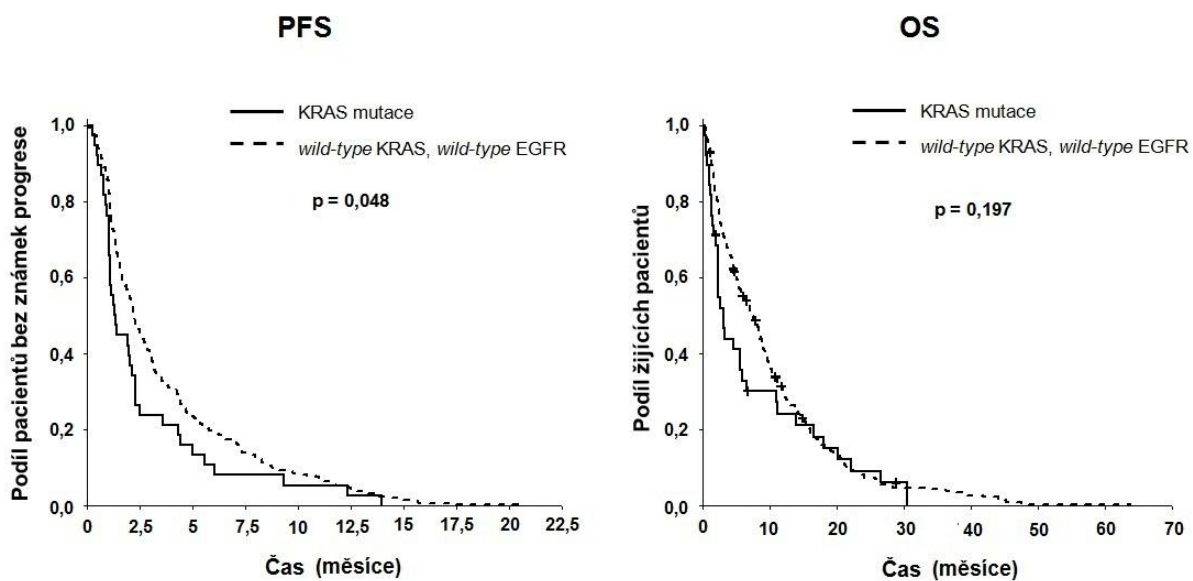




**Obrázek 34** - Výskyt mutací genu KRAS podle kuřáctví

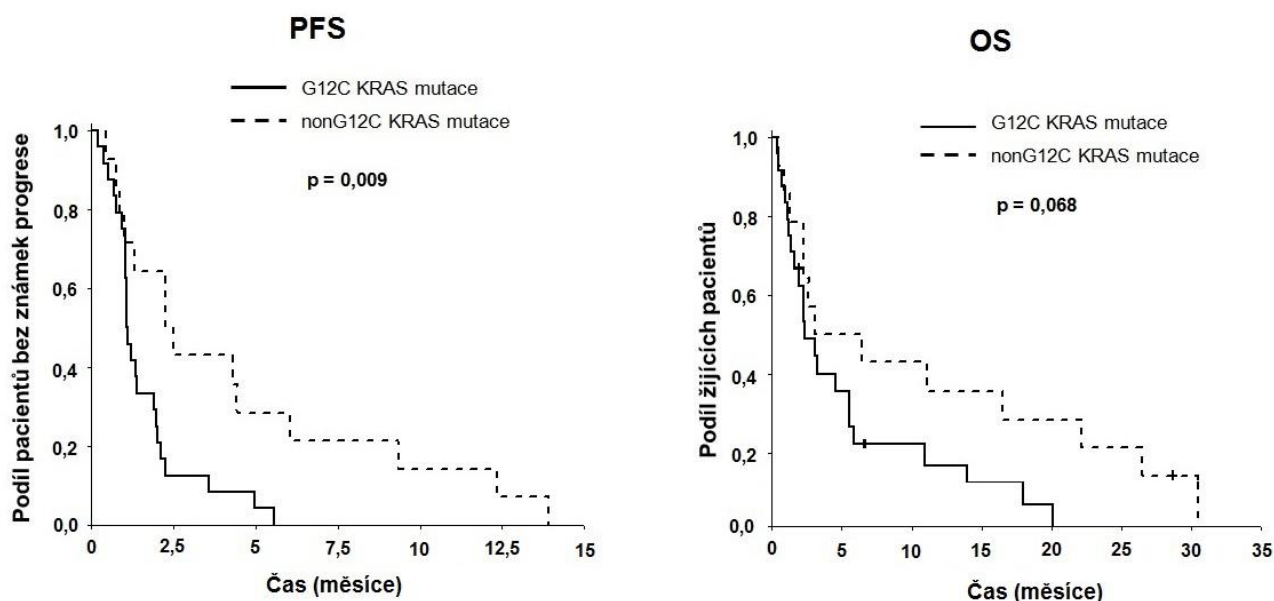
#### 2.2.4 Prediktivní význam mutací genu KRAS

Medián PFS u pacientů s prokázanou mutací genu KRAS činil 1,3 měsíce vs. 2,2 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR, *wild-type* KRAS genem (**Obrázek 35**). Rozdíl v PFS mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ( $p=0,048$ ). Medián OS u pacientů s mutací KRAS činil 3,0 měsíce vs. 7,2 měsíce u pacientů s *wild-type* EGFR, *wild-type* KRAS genem (**Obrázek 35**). Rozdíl v OS mezi oběma skupinami nebyl statisticky signifikantní ( $p=0,197$ ).



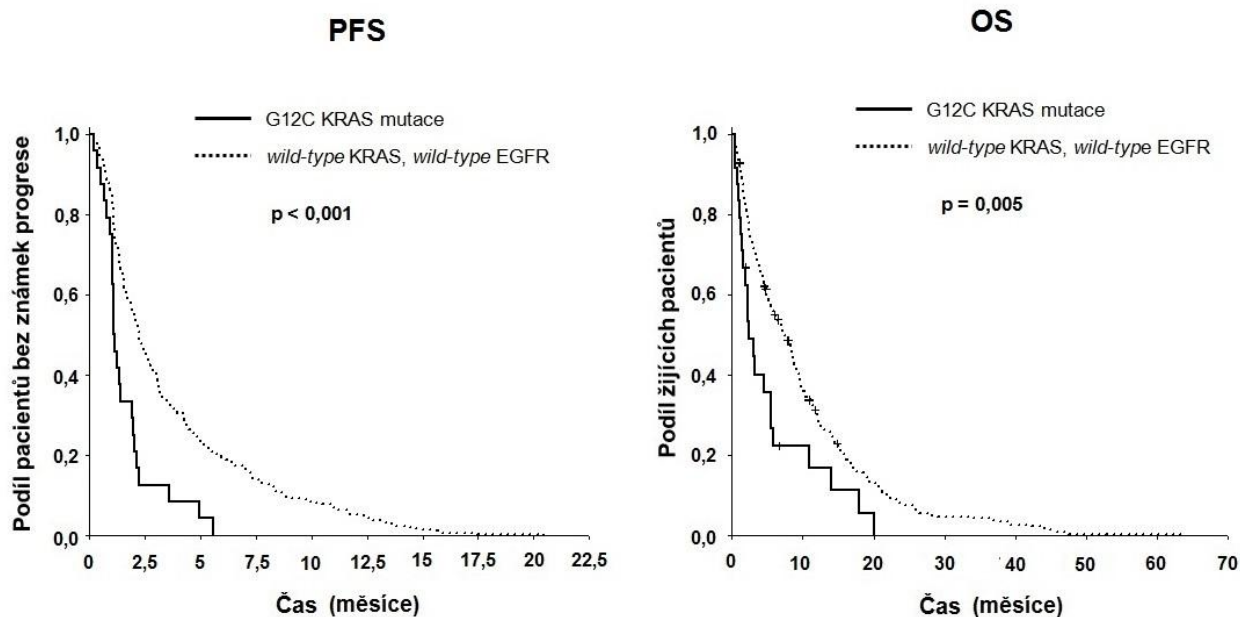
**Obrázek 35** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací genu KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem

Medián PFS u pacientů s mutací G12C KRAS činil 1,1 měsíce vs. 2,3 měsíce u pacientů s nonG12C KRAS mutací (**Obrázek 36**). Rozdíl v PFS mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ( $p=0,009$ ). Medián OS u pacientů s mutací G12C KRAS činil 2,3 měsíce vs. 3,0 měsíce u pacientů s nonG12C KRAS mutací (**Obrázek 36**). Rozdíl v OS mezi oběma skupinami nebyl statisticky signifikantní ( $p=0,068$ ).

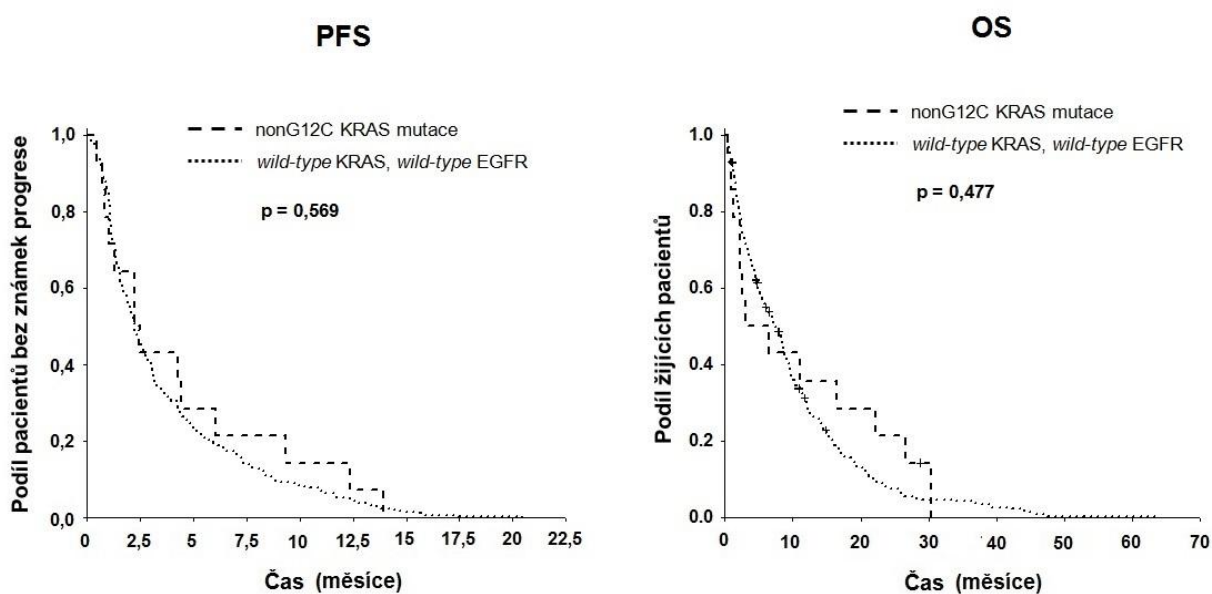


**Obrázek 36** - Srovnání přežití mezi pacienty s G12C KRAS mutací a pacienty s nonG12C KRAS mutací

Při porovnání přežití pacientů s mutací G12C KRAS a pacientů s *wild-type* EGFR, *wild-type* KRAS genem (PFS: 1,1 vs. 2,2 měsíce, OS: 2,3 vs. 7,2 měsíce) byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami v PFS ( $p<0,001$ ) i v OS ( $p=0,005$ ) (**Obrázek 37**). Oproti tomu, při porovnání přežití pacientů s mutací nonG12C KRAS a pacientů s *wild-type* EGFR, *wild-type* KRAS genem (PFS: 2,3 vs. 2,2 měsíce, OS: 12,1 vs. 7,2 měsíce) nebyl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami v PFS ( $p=0,569$ ) ani v OS ( $p=0,477$ ) (**Obrázek 38**).



**Obrázek 37** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací G12C KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem



**Obrázek 38** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací nonG12C KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem

## 2.2 Diskuze I

V naší studii jsme prokázali přítomnost aktivačních mutací genu EGFR celkem u 11,9% vyšetřených pacientů. Mutace byly častěji zjištěny u pacientů s adenokarcinomem (14,9% vs. 7,8%,  $p=0,008$ ), žen (20,2% vs. 7,1%,  $p<0,001$ ) a nekuřáků (29,9% vs. 7,0%,  $p<0,001$ ). Výsledky námi provedené studie ukazují relativně vyšší výskyt těchto mutací u pacientů se skvamózním histologickým typem NSCLC (7,5%), než bývá většinou popisován v literatuře [30]. Tento rozdíl je zřejmě částečně ovlivněn faktem, že u námi testovaných pacientů se skvamózním karcinomem se nejednalo o zcela neselektovanou populaci 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 je stále relativně málo. Naše výsledky jednoznačně potvrdily význam aktivačních mutací genu EGFR pro predikci efektu léčby EGFR-TKI u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. U pacientů nesoucích aktivační mutaci genu EGFR bylo dosaženo významně delšího PFS i OS než u pacientů nesoucích *wild-type* EGFR gen (PFS: 7,2 vs. 2,0 měsíce,  $p<0,001$ ; OS: 14,5 vs. 7,5 měsíce,  $p=0,019$ ). Následná subanalýza přežití pacientů, léčených EGFR-TKI, zaměřená na význam histologického typu NSCLC ukázala velmi zajímavé výsledky. Zde jsme potvrdili, že pacienti s adenokarcinomem, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR, z léčby EGFR-TKI profitují významně lépe než pacienti nesoucí *wild-type* EGFR genotyp (PFS: 10,2 vs. 1,9 měsíce,  $p<0,001$ ; OS: 17,7 vs. 7,5 měsíce,  $p=0,010$ ). Oproti tomu však, v případě pacientů se skvamózním karcinomem, kteří jsou nositeli aktivační mutace genu EGFR, jsme neprokázali signifikantní prodloužení přežití při srovnání s pacienty s *wild-type* EGFR genotypem (PFS: 4,7 vs. 2,1 měsíce,  $p=0,141$ ; OS: 6,8 vs. 7,8 měsíce,  $p=0,749$ ). Tyto výsledky tak zpochybňují prediktivní potenciál aktivačních mutací genu EGFR u pacientů se skvamózním karcinomem. Na podobné výsledky upozornili v minulosti Shukuya et al. v publikované metaanalýze několika studií [161]. Jednoznačné vysvětlení pro toto zjištění v současné době neexistuje. Faktem je, že adenokarcinom, respektive neskvamózní karcinom se od skvamózního karcinomu významně liší v mnoha ohledech na úrovni genetiky, epigenetiky i proteomiky. Jako možná hypotéza se nabízejí například alterace (mutace, amplifikace) genu PI3KCA, který kóduje podjednotku PI3K proteinu, který je významnou součástí signální dráhy startované aktivací EGFR [162]. Takové genetické alterace pak mohou být důvodem rezistence k léčbě cílené na EGFR signální dráhu [163]. Bylo zjištěno, že alterace genu PI3KCA se u skvamózního karcinomu vyskytují mnohem častěji, v porovnání s adenokarcinomem [162, 164, 165]. V subanalýze přežití pacientů, léčených EGFR-TKI, zaměřené na význam typu EGFR mutace jsme neprokázali statisticky signifikantní rozdíl v PFS ani v OS mezi pacienty s delecí na 19. exonu a pacienty s bodovou mutací na 21. exonu (PFS: 7,3 vs. 6,1 měsíce,  $p=0,593$ ; OS: 14,5 vs. 13,9 měsíce,  $p=0,348$ ). Naše zjištění tak nepotrdilo výsledky publikované autorskými kolektivy pod vedením Rielyho a Jackmana, kteří prokázali vyšší efekt léčby EGFR-TKI u pacientů s delecí na 19. exonu [166, 167].

Mutace genu KRAS jsme v naší studii prokázali u 15,3% vyšetřených pacientů. Jejich výskyt byl častý zejména u pacientů s adenokarcinomem (21,0% vs. 9,3%,  $p=0,004$ ) a kuřáků (17,9% vs. 5,3%,  $p=0,006$ ). Neprokázali jsme souvislost výskytu KRAS mutace a pohlaví (16,2% vs. 13,9%,  $p=0,594$ ). Tato zjištění jsou v souladu s výsledky, které jsou většinou uváděny v literatuře [168]. 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 nositelů KRAS mutace v naší populaci. Pozoruhodným faktem je, že různé zhoubné nádory vykazují, krom rozdílu v samotném výskytu KRAS mutací, i výrazně odlišné

zastoupení typů této mutace. Dominantní zastoupení G12C KRAS mutací u NSCLC kontrastuje například s karcinomem pankreatu nebo kolorektálním karcinomem, kde dominuje zastoupení G12D KRAS mutace [169, 170]. Tento rozdíl je možné vysvětlit rozdílnou etiopatogenezi vlastního nádorového onemocnění, zejména významem kouření. Bylo prokázáno, že polycyklické aromatické uhlovodíky (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH), které vznikají nedokonalým spalováním tabáku, dávají vznik reaktivním metabolitům, které pak interakcí s DNA vytvářejí 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. Dominantní zastoupení G12C KRAS mutací u NSCLC tedy zřejmě vzniká převážně jako důsledek kouření [171, 172]. U pacientů nesoucích mutace genu KRAS bylo dosaženo významně kratšího PFS než u pacientů nesoucích *wild-type* KRAS gen (1,3 vs. 2,2 měsíce,  $p=0,048$ ), rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní ( $p=0,197$ ). 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 (2,3 vs. 1,1 měsíce,  $p=0,009$ ), rozdíl v OS nebyl statisticky signifikantní ( $p=0,068$ ). Srovnání přežití pacientů s mutací G12C KRAS a pacientů nesoucích *wild-type* KRAS gen ukázalo statisticky signifikantně kratší PFS i OS u pacientů s mutací G12C KRAS (PFS: 1,1 vs. 2,2 měsíce,  $p<0,001$ , OS: 2,3 vs. 7,2 měsíce,  $p=0,005$ ) byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami. Oproti tomu, srovnání přežití pacientů s mutací nonG12C KRAS a pacientů nesoucích *wild-type* KRAS gen neukázalo statisticky signifikantní rozdíl v PFS ani v OS (PFS: 2,3 vs. 2,2 měsíce,  $p=0,569$ , OS: 12,1 vs. 7,2 měsíce,  $p=0,477$ ). 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 [150] a Brogini a kol. publikovali podobné výsledky, rovněž experimentální práce, ve které prokázali rezistenci k multikinázovému inhibitoru sorafenibu u buněčných linií NSCLC s mutací genu KRAS typu G12C [151]. Na základě těchto preklinických dat a našich vlastních výsledků lze předpokládat, že primární rezistenci k EGFR-TKI je možné s vysokou pravděpodobností predikovat pouze u pacientů s prokázanou mutací KRAS typu G12C. Léčba EGFR-TKI u takových pacientů je tedy 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 genem, ačkoli výsledky léčby u této populace pacientů nejsou zdaleka uspokojivé. Pacienti s pokročilým stadiem NSCLC by tedy k léčbě EGFR-TKI neměli být selektováni pouze na základě přítomnosti mutace genu KRAS, ale je nutné zohlednit zejména její typ. Hlavní limitace této studie představovaly její retrospektivní design, limitovaný počet pacientů (zejména v některých podskupinách) a fakt, že jsme testovali pouze přítomnost klasických aktivačních mutací genu EGFR. Vzhledem k tomu, že klasické aktivační mutace genu EGFR představují drtivou většinu (cca 90%) všech aktivačních mutací genu EGFR [91, 92], není příliš pravděpodobné, že by netestování neklasických EGFR mutací významným způsobem ovlivnilo dosažené výsledky.

### 3 Srovnání EGFR-TKI a chemoterapie v první linii léčby pacientů s aktivační mutací genu EGFR

#### 3.1 Metody

##### 3.1.1 Soubor pacientů

Do retrospektivní studie bylo zařazeno celkem 54 pacientů s cytologicky nebo histologicky verifikovaným NSCLC, u kterých bylo úspěšně provedeno genetické vyšetření, které prokázalo přítomnost aktivační mutace genu EGFR. Jednalo se o pacienty s lokoregionálně pokročilým nebo metastatickým stadiem NSCLC (stadium IIIB, IV), kteří byli v letech 2002-2012 léčeni chemoterapií nebo EGFR-TKI na Klinice pneumologie a ftizeologie LF UK a FN Plzeň. Souhrnná charakteristika porovnávaných skupin pacientů je uvedena v **Tabulce 7**.

Skupina pacientů léčených v první linii chemoterapií zahrnovala více pacientů mladšího věku (medián 64 let vs. 74 let;  $p=0.004$ ) a rovněž pacientů s lepším stavem výkonnosti (PS 0: 16,1% vs. 13,0%, PS 1: 77,4% vs. 47,8%, PS 2: 6,5% vs. 34,8%, PS 3: 0,0% vs. 4,3%;  $p=0,021$ ) v porovnání se skupinou pacientů léčených v první linii EGFR-TKI. Mezi oběma skupinami nebyl významný rozdíl, co se týká zastoupení pohlaví ( $p=0,370$ ), kuřáctví ( $p=0,590$ ), histologického typu ( $p=0,092$ ) a stadia onemocnění ( $p=0,200$ ). Ve skupině pacientů léčených v první linii chemoterapií bylo všech 31 (100%) pacientů léčeno EGFR-TKI ve druhé linii léčby. Oproti tomu, ve skupině pacientů léčených v první linii EGFR-TKI bylo pouze 10 (43,5%) pacientů léčeno ve druhé (ev. další) linii chemoterapií, 13 (56,5%) pacientů bylo po ukončení prvoliniové léčby léčeno pouze základní podpůrnou léčbou, vzhledem k jejich celkovému stavu, který nedovoloval další aktivní onkologickou léčbu. Rozdíl v následné léčbě po ukončení léčby první linie mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ( $p<0,001$ ).

##### 3.1.2 Léčba a sledování follow-up

Ve skupině pacientů, kteří byli v první linii léčeni EGFR-TKI bylo 11 pacientů léčeno erlotinibem (150 mg per os denně) a 12 pacientů léčeno gefitinibem (250 mg per os denně); léčba byla ukončena při zjištění progresu onemocnění, případně při výskytu závažných nežádoucích účinků. Ve skupině pacientů, kteří byli v první linii léčeni chemoterapií bylo 10 pacientů léčeno kombinací paklitaxel\karboplatina (paklitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a karboplatina dle AUC 5 v den 1, á 3 týdny), 5 pacientů bylo léčeno kombinací gemcitabin\karboplatina (gemcitabin 1000 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a 8, karboplatina dle AUC 5 v den 1, á 3 týdny), 4 pacienti byli léčeni kombinací gemcitabin\paklitaxel\karboplatina (paklitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> v den 1, karboplatina dle AUC 5 v den 1 a gemcitabin 1000 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a 8, á 3 týdny), 3 pacienti byli léčeni kombinací gemcitabin\cisplatina (gemcitabin 1000 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a 8, cisplatina 80 mg/m<sup>2</sup> v den 1, á 3 týdny), 3 pacienti byli léčeni kombinací paklitaxel\karboplatina\bevacizumab (paklitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> v den 1, karboplatina dle AUC 5 v den 1 a bevacizumab 7,5 mg/m<sup>2</sup>, á 3 týdny), 2 pacienti byli léčeni kombinací docetaxel\karboplatina (docetaxel 75 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a karboplatina dle AUC 6 v den 1, á 3 týdny), 1 pacient byl léčen kombinací pemetrexed\karboplatina (pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a karboplatina dle AUC 6 v den 1, á 3 týdny), 1 pacient byl léčen kombinací pemetrexed\cisplatina (pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a cisplatina 75 mg/m<sup>2</sup> v den 1, á 3 týdny), 1 pacient byl léčen kombinací etoposid\cisplatina (etoposid 100 mg/m<sup>2</sup> v den 1, 2, 3 a cisplatina 120 mg/m<sup>2</sup> v den 1, á 3 týdny) a 1 pacient byl léčen kombinací vinorelbin\cisplatina (vinorelbin 25 mg/m<sup>2</sup> v den 1 a 8 a cisplatina 80 mg/m<sup>2</sup> v den 1, á 3 týdny). Přehled užitých prvoliniových terapií sumarizuje **Obrázek 39**. Chemoterapie byla podávána celkem do šesti

cyklů, pokud během této léčby nedošlo k progresi onemocnění nebo výskytu závažné toxicity. Pravidelné kontroly byly prováděny v 3-4 týdenních intervalech, zahrnovaly klinické a laboratorní vyšetření a rovněž kontrolu skiagram hrudníku. Ve 2-3 měsíčních intervalech bylo prováděno kontrolní CT nebo PET/CT, případně doplněné o kontrolní bronchoskopické vyšetření. Léčba byla ukončena při zjištění progresu onemocnění, případně při výskytu závažných nežádoucích účinků. Přežití bez známek progresu (*progression-free survival* – PFS) bylo počítáno od doby zahájení léčby první linie do prvního zjištění progresu onemocnění, případně úmrtí v souvislosti s nádorovým onemocněním. Dosažená léčebná odpověď byla hodnocena nezávislým radiologem na základě kritérií RECIST [160], v termínech: kompletní regrese (CR), parciální regrese (PR), stabilizace onemocnění (SD) a progredující onemocnění (PD); jako kontrola onemocnění (disease control rate - DCR) bylo hodnoceno dosažení CR, PR nebo SD. Progrese onemocnění byla hodnocena nezávislým radiologem rovněž na základě kritérií RECIST. Celkové přežití (*overall survival* – OS) bylo počítáno od doby zahájení léčby EGFR-TKI do úmrtí nebo ztráty follow-up. Hodnocení nežádoucích účinků léčby bylo provedeno podle platné WHO klasifikace [33].

### **3.1.3 Molekulárně-genetické vyšetření**

Vyšetření na přítomnost aktivačních mutací genu EGFR bylo provedeno stejnou metodikou, která je popsána v kapitole 5.1.3.

### **3.1.4 Statistické zpracování**

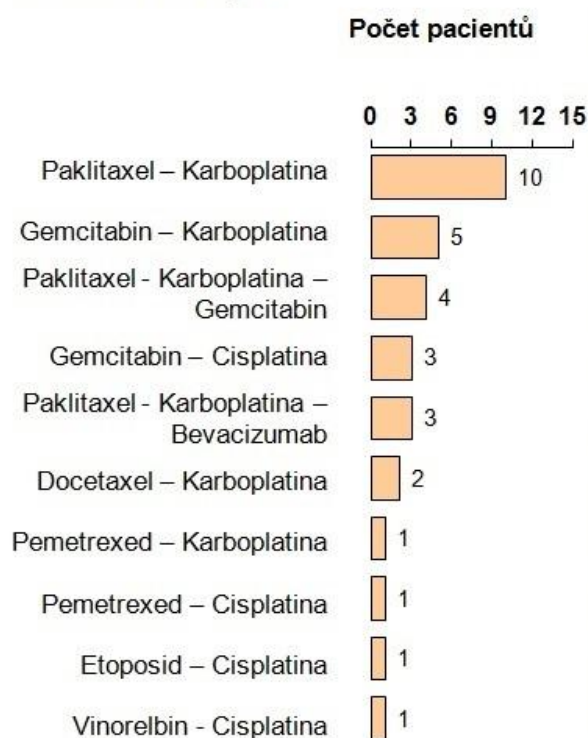
Kategoriální proměnné byly charakterizovány četností výskytu jednotlivých kategorií a příslušným procentuálním zastoupením. Spojité proměnné byly sumarizovány pomocí popisné statistiky (průměr, medián). Statistická významnost rozdílů v klinických parametrech mezi oběma srovnávanými skupinami pacientů byla stanovena s použitím Fisherova exaktního testu. PFS a OS byly vypočteny Kaplan-Meierovou metodou. Ke všem bodovým odhadům byly doplněny 95% intervaly spolehlivosti. Statistická významnost rozdílů v přežití mezi podskupinami pacientů byla stanovena pomocí log-rank testu.

**Tabulka 7** - Charakteristika souboru pacientů léčených v první linii chemoterapií nebo EGFR-TKI

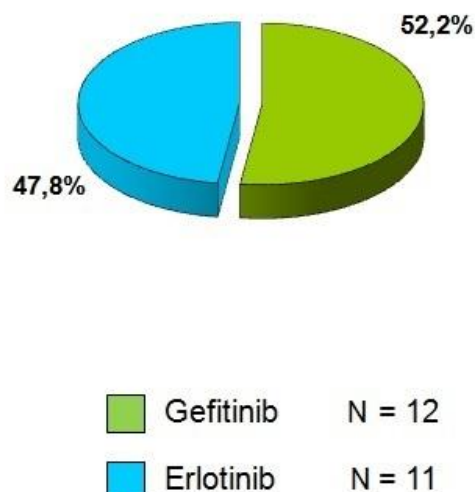
	<b>Chemoterapie</b> (N = 31)		<b>EGFR-TKI</b> (N = 23)		<b>p</b>
<b>Pohlaví</b>					0,370
Ženy	20	35,50%	18	78,30%	
Muži	11	64,50%	5	21,70%	
<b>Věk</b>					<b>0,004</b>
Medián	64		74		
Průměr	63		71		
<b>Kouření</b>					0,590
Nekuřák	18	60,00%	12	52,20%	
Kuřák/exkuřák	12	40,00%	11	47,80%	
<b>Histologický typ</b>					0,092
Adenokarcinom	22	71,00%	21	91,30%	
Skvamózní karcinom	9	29,00%	2	8,70%	
<b>ECOG PS</b>					<b>0,021</b>
0	5	16,10%	3	13,00%	
1	24	77,40%	11	47,80%	
2	2	6,50%	8	34,80%	
3	0	0,00%	1	4,30%	
4	0	0,00%	0	0,00%	
<b>Stadium</b>					0,200
IIIB	9	29,00%	3	13,00%	
IV	22	71,00%	20	87,00%	



## Chemoterapie



## EGFR-TKI



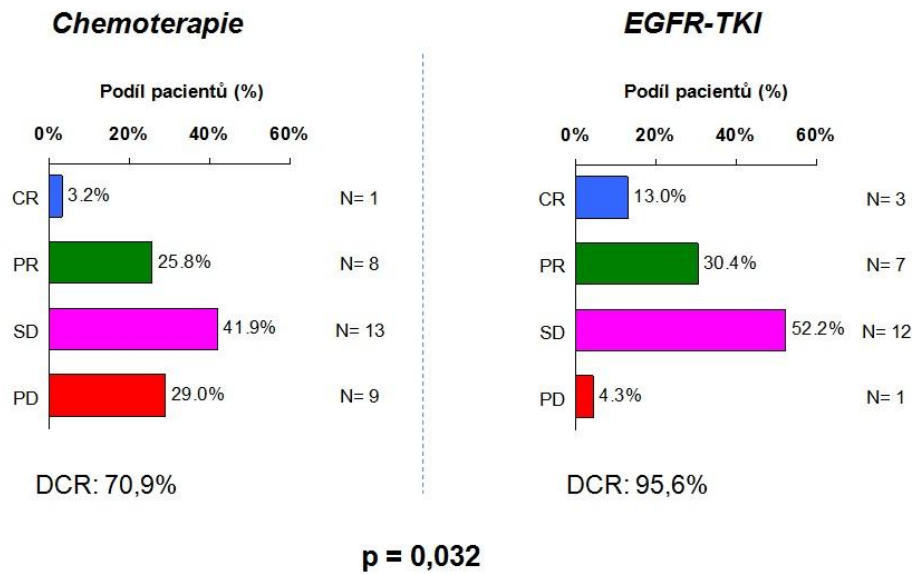
Obrázek 39 - Přehled užití prvoliniové léčby

## 3.2 Výsledky

### 3.2.1 Dosažená léčebná odpověď

U pacientů léčených v první linii EGFR-TKI bylo ve 3 (13,0%) případech dosaženo CR, v 7 (30,4%) případech bylo dosaženo PR, ve 12 (52,2%) případech bylo dosaženo SD. DCR bylo celkem tedy dosaženo u 95,6% pacientů. U pacientů léčených v první linii chemoterapií bylo v 1 (3,2%) případě dosaženo CR, v 8 (25,8%) případech bylo dosaženo PR, ve 12 (41,9%) případech bylo dosaženo SD, DCR bylo celkem tedy dosaženo u 70,9% pacientů. Rozdíl v dosažení DCR mezi oběma skupinami pacientů byl statisticky signifikantní ( $p=0,032$ ) (Obrázek 40).

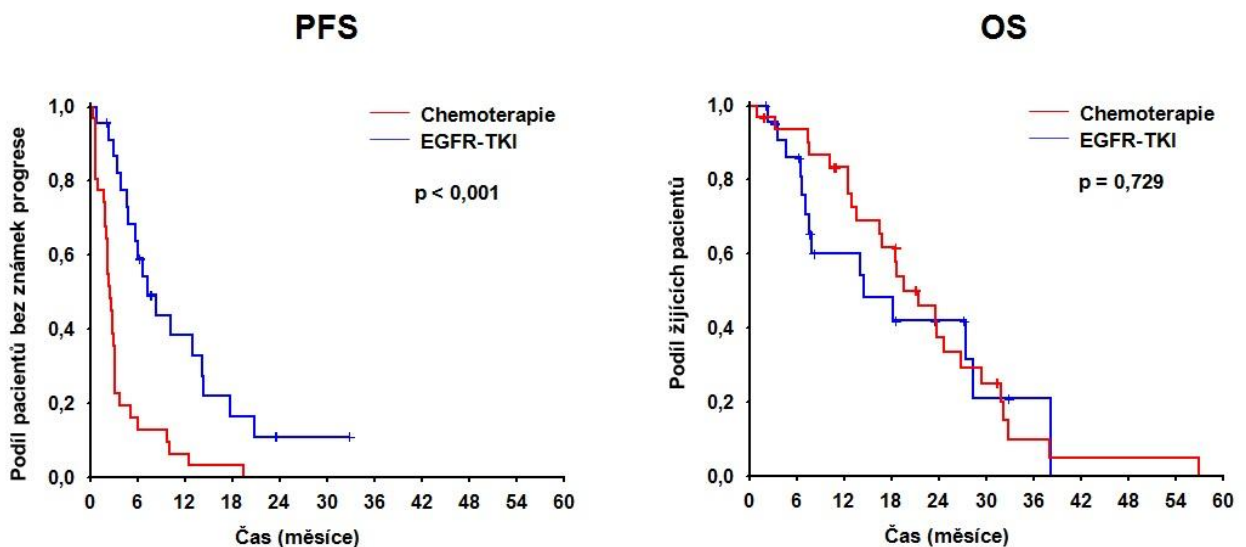
## Léčebná odpověď



**Obrázek 40** - Srovnání dosažené léčebné odpovědi

### 3.2.2 Přežití pacientů

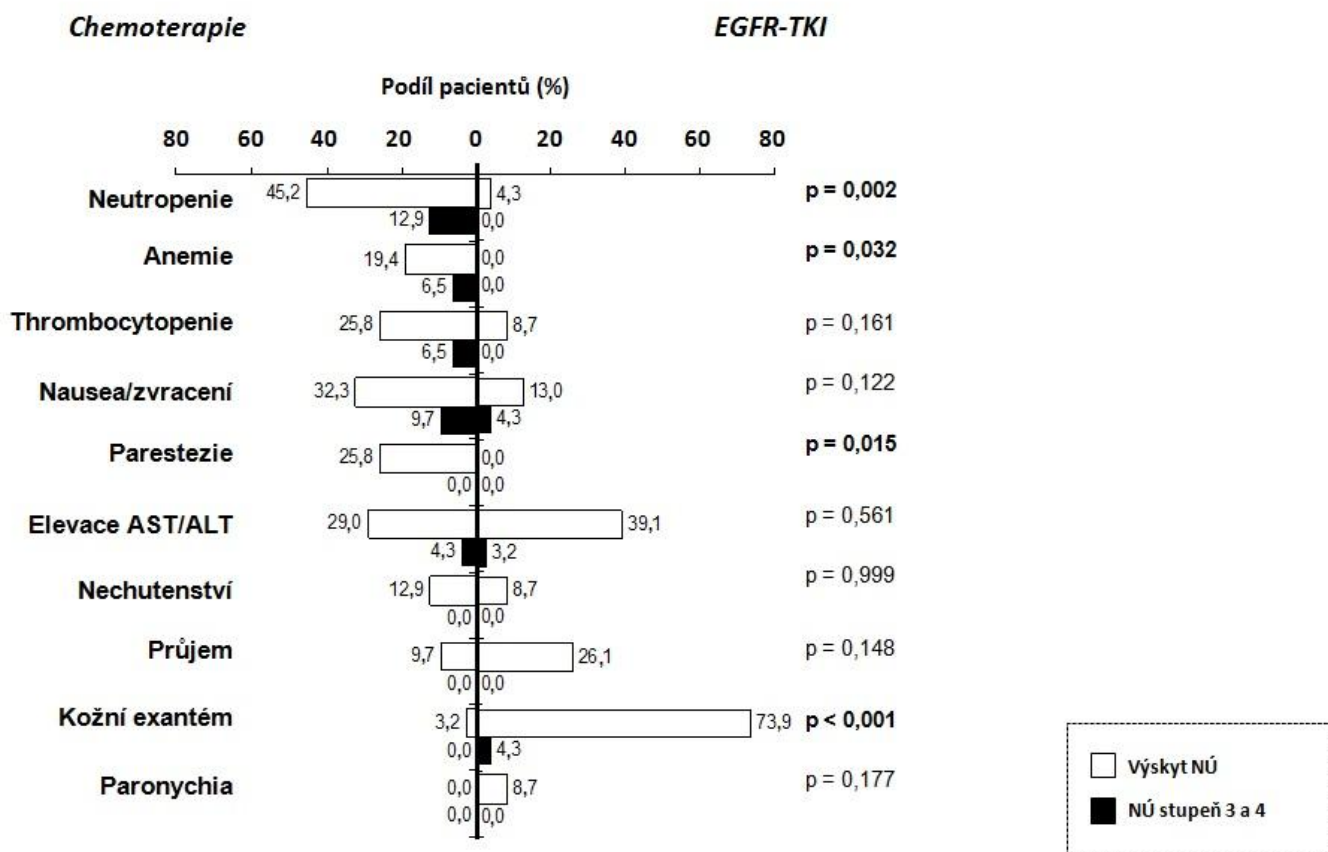
Medián PFS u pacientů léčených v první linii EGFR-TKI činil 7,2 vs. 2,5 měsíce u pacientů léčených v první linii chemoterapií (**Obrázek 41**), rozdíl mezi oběma skupinami byl statisticky signifikantní ( $p < 0,001$ ). Medián OS u pacientů léčených v první linii EGFR-TKI činil 14,5 vs. 21,4 měsíce u pacientů léčených v první linii chemoterapií (**Obrázek 41**), rozdíl mezi oběma skupinami nebyl statisticky signifikantní ( $p = 0,729$ ).



**Obrázek 41** - Srovnání přežití pacientů léčených v první linii chemoterapií a pacientů léčených EGFR-TKI

### 3.2.3 Nežádoucí účinky léčby

V průběhu prvoliniové léčby jsme zaznamenali následující nežádoucí účinky. Neutropenie byla zjištěna u 1 pacienta (4,3%) léčeného EGFR-TKI vs. u 14 pacientů (45,2%) léčených chemoterapií ( $p=0,002$ ), včetně 4 (12,9%) případů 3. nebo 4. stupně WHO klasifikace. Trombocytopenie byla zjištěna u 2 pacientů (8,7%) léčených EGFR-TKI vs. u 8 pacientů (25,8%), léčených chemoterapií ( $p=0,161$ ), včetně 2 (6,5%) případů 3. nebo 4. stupně WHO klasifikace. Anémie nebyla zjištěna u žádného pacienta léčeného EGFR-TKI vs. u 6 pacientů (19,4%) léčených chemoterapií ( $p=0,032$ ), včetně 2 (6,5%) případů 3. nebo 4. stupně WHO klasifikace. Žádný případ hematologické toxicity 3. nebo 4. stupně WHO klasifikace nebyl zjištěn u pacientů léčených EGFR-TKI. Nausea a zvracení byly zaznamenány u 3 pacientů (13,0%) léčených TKI-EGFR vs. u 10 pacientů (32,3%) léčených chemoterapií ( $p=0,122$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace byl zjištěn u 1 pacienta (4,3%) léčeného EGFR-TKI vs. u 3 pacientů (9,7%) léčených chemoterapií. Elevace transamináz (AST, ALT) byla zjištěna u 9 pacientů (39,1%) léčených EGFR-TKI vs. u 9 pacientů (29,0%), kteří byli léčeni chemoterapií ( $p=0,561$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace byl zjištěn u 1 pacienta (3,2%) léčeného EGFR-TKI vs. u 1 pacienta (4,3%) léčeného chemoterapií. Parestezie jakéhokoliv stupně nebyly zaznaměny u žádného z pacientů léčených EGFR-TKI vs. u 8 pacientů (25,8%) léčených chemoterapií ( $p=0,015$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace nebyl zjištěn u žádného z obou skupin pacientů. Kožní exantém byl zaznamenán u 17 pacientů (73,9%) léčených EGFR-TKI vs. u 1 pacienta (3,2%) léčeného chemoterapií ( $p<0,001$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace byl zaznamenán u 1 pacienta (4,3%) léčeného EGFR-TKI vs. u žádného z pacientů léčených chemoterapií. Průjem byl zaznamenán u 6 pacientů (26,1%) léčených EGFR-TKI vs. u 3 pacientů (9,7%) léčených chemoterapií ( $p=0,148$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace nebyl zaznamenán u žádného z obou skupin pacientů. Paronychia byla zaznamenána u 2 pacientů (8,7%) léčených EGFR-TKI vs. u žádného z pacientů léčených chemoterapií ( $p=0,177$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace nebyl zaznamenán u žádného z obou skupin pacientů. Nechutenství bylo zaznamenáno u 4 pacientů (12,9%) léčených chemoterapií vs. u 2 (8,7%) pacientů léčených EGFR-TKI ( $p=0,999$ ), stupeň 3 nebo 4 WHO klasifikace nebyl zaznamenán u žádného z obou skupin pacientů. Rozdíly ve výskytu nežádoucích účinků stupně 3 nebo 4 WHO klasifikace mezi oběma skupinami nebyly statisticky hodnoceny, z důvodu nízkého počtu zjištěných příhod. U žádného pacienta jsme nezaznamenali výskyt zvláště závažných komplikací, které by, ve svém důsledku, vedly k úmrtí pacienta. Srovnání výskytu nežádoucích účinků sumarizuje **Obrázek 42**.



Obrázek 42 - Srovnání výskytu nežádoucích účinků léčby

## 2.1 Diskuze II

Výsledky naší studie prokázaly, že ve skupině pacientů léčených v první linii EGFR-TKI bylo významně častěji dosaženo kontroly onemocnění (95,6% vs. 70,9%,  $p=0,032$ ) a rovněž významně delšího PFS (7,2 vs. 2,5 měsíce;  $p<0,001$ ) v porovnání se skupinou pacientů léčených v první linii chemoterapií. Oproti tomu, jsme neprokázali významný rozdíl v OS mezi oběma skupinami pacientů. Hlavním důvodem proč nebyl prokázán významný rozdíl v OS je zřejmě následná léčba, respektive míra cross-overu, kde se obě skupiny významně lišily. Zatímco všichni pacienti (100%) léčení chemoterapií v první linii byli následně léčení EGFR-TKI v linii druhé, mezi pacienty, kteří byli v první linii léčení EGFR-TKI bylo pouze 10 (43,5%) pacientů léčeno ve druhé linii chemoterapií a 13 (26,5%) pacientů bylo dále léčeno pouze základní podpůrnou léčbou. Pro rozhodnutí o následné léčbě byl určující zejména celkový stav pacienta. Významný rozdíl v následné léčbě mezi oběma skupinami je dán dvěma faktory. Za prvé, EGFR-TKI představují relativně bezpečné a dobře tolerované preparáty a lze je tedy užít i u pacientů, jejichž celkový stav již nedovoluje užít chemoterapie, nebo by její užití bylo značně rizikové. Za druhé, obě skupiny se významně lišily zastoupením pacientů, co do ECOG PS a věku. Ve skupině léčené EGFR-TKI bylo zastoupeno více pacientů s horším ECOG PS ( $p=0,021$ ) a rovněž více pacientů vyššího věku ( $p=0,004$ ), tedy jak již bylo zmíněno, pacientů méně vhodných k léčbě chemoterapií. Faktum je, že

významného prodloužení OS nebylo dosaženo ani v recentně publikovaných klinických studiích fáze III, které srovnávali EGFR-TKI a chemoterapii v první linii u pacientů s aktivační mutací genu EGFR, kde to bylo převážně důsledkem vysoké míry cross-overu [74, 75]. Při porovnání výsledků prvoliniové léčby EGFR-TKI u našich pacientů s výsledky klinických studií je patrné, že naši pacienti dosahovali horších výsledků. Toto bylo způsobeno zejména věkovou strukturou našich pacientů a vyšším podílem pacientů s horším PS. V klinické praxi se poměrně často stává, že výsledky onkologické léčby 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 nečastěji setkávali s kožním exantémem a průjemem. V minulosti bylo prokázáno, že výskyt a intenzita kožního exantému dobře koreluje s léčebnou odpovědí na EGFR-TKI [71]. S ohledem na velikost našeho souboru pacientů jsme se souvislostí efektu léčby EGFR-TKI a kožního exantému v této studii nezabývali, ale uvedené zjištění můžeme potvrdit jinou, vlastní publikovanou studií, kdy jsme prokázali významně delší přežití pacientů s výsevem exantému v průběhu léčby erlotinibem [72]. Stran nežádoucích účinků, lze říci, že léčba EGFR-TKI je pacienty lépe tolerována a je bezpečnější. Kožní exantém i průjem při léčbě EGFR-TKI je možné poměrně dobře ovlivnit léčbou, případně redukcí dávky. Projevy hematologické toxicity často vedou k odkladu podání chemoterapie a mohou vést k závažným komplikacím zejména v podobě rozvoje febrilní neutropenie, nebo krvácení při trombocytopenii. Tyto komplikace pak mohou pacienta přímo ohrozit na životě. Nausea, zvracení a parestezie při léčbě chemoterapií jsou léčbou do značné míry ovlivnitelné, ale nepochybně jde o nežádoucí účinky, které mohou závažným způsobem zhoršit kvalitu života pacienta. Kvalitu života pacientů jsme v naší studii nehodnotili, ale zlepšení kvality života pacientů léčených EGFR-TKI v porovnání s chemoterapií bylo dokumentováno například ve studii IPASS [78]. Hlavní limitace této studie představovaly její retrospektivní design a zejména limitovaný počet pacientů.

## ZÁVĚRY

---

Aktivační mutace genu EGFR jsme prokázali u 11,9% vyšetřených pacientů, nejčastěji byly prokazovány u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků. Přítomnost těchto mutací výrazně korelovala s dobrým efektem léčby EGFR-TKI, kde jsme prokázali významné prodloužení PFS i OS u pacientů s prokázanou aktivační mutací genu EGFR. Jednoznačně jsme tak potvrdili prediktivní význam aktivačních mutací genu EGFR pro léčbu EGFR-TKI. Prokázali jsme, že prediktivní význam těchto mutací je zřejmě omezen pouze na pacienty s NSCLC neskvamózního histologického typu. Genetické testování pacientů se skvamózním karcinomem plic se tedy nejeví jako přínosné, nejen z důvodu nízké incidence aktivačních mutací genu EGFR u pacientů s tímto histologickým typem, ale rovněž z důvodu nízké prediktivní výpovědi těchto mutací. Neprokázali jsme rozdíl v přežití pacientů v souvislosti s typem aktivační mutace genu EGFR.

Mutace genu KRAS jsme prokázali u 15,3% vyšetřených pacientů, nejčastěji byly prokazovány u pacientů s adenokarcinomem a kuřáků. Přítomnost těchto mutací korelovala s horším efektem léčby EGFR-TKI, kde jsme prokázali významně kratší PFS. Prokázali jsme významný rozdíl v přežití v souvislosti s typem mutace KRAS. Pacienti s mutací KRAS typu G12C dosahovali významně kratšího PFS oproti pacientům s mutací KRAS jiného typu. Přežití pacientů s mutací KRAS typu nonG12C bylo srovnatelné s přežitím pacientů, kteří jsou nositeli wild-type EGFR a wild-type KRAS genu. Tyto výsledky tak nasvědčují tomu, že ne všechny typy KRAS mutace představují jednoznačně prediktor rezistence k léčbě EGFR-TKI u pacientů s pokročilým stadiem NSCLC. Pacienti by tedy k této léčbě neměli být selektováni pouze na základě přítomnosti mutace genu KRAS, ale měl by být zohledněn i typ této mutace.

Při srovnání efektivity a bezpečnosti EGFR-TKI a chemoterapie v první linii léčby u selektované populace pacientů s aktivační mutací genu EGFR, jsme prokázali významně delší PFS u pacientů léčených EGFR-TKI. Rozdíl v OS se nám zde prokázat nepodařilo z důvodu vysoké míry cross-overu a rovněž z důvodu odlišností v základních klinických parametrech pacientů, kde byli zvýhodněni pacienti léčení v první linii chemoterapií. Léčba EGFR-TKI v první linii se ukázala jako bezpečná, pro pacienta méně zatěžující a provázená méně závažnými nežádoucími účinky, zejména v podobě kožního exantému a průjmu, které lze většinou dobře ovlivnit léčbou, případně redukcí dávky. Jednoznačně lze říci, že pokud chceme pacientovi nabídnout optimální léčbu, pak je provedení genetického testování na přítomnost aktivační mutace genu EGFR klíčové. Pacientovi s prokázanou aktivační mutací genu EGFR pak můžeme nabídnout vysoce efektivní a dobře tolerovanou léčbu v podobě EGFR-TKI v první linii.

Výsledky naší práce jasně ukazují, že vyšetřování prediktivních faktorů představuje nezbytný krok k aplikaci personalizované onkologické léčby v klinické praxi.

## SEZNAM LITERATURY

---

1. DUŠEK L., MUŽÍK, J., KUBÁSEK, M., et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [cit. 8.9.2012]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>, ISSN 1802-8861.
2. DOCKERY, D. W., 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., 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., LUIN, J. H. Occupational and environmental radiation and cancer. *Cancer Causes and Control*, 1997, 8, 3, p. 309-322, ISSN 0957-5243.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. SKŘIČKOVÁ, 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.
10. MULLON, J.J., 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. pp. 342, ISBN-10 0415385105.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. JEDLIČKA, V. Chirurgická léčba nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC). s. 214-223. In: SKŘIČKOVÁ, J. a KOLEK, V., ed. *Základy moderní pneumoonkologie*. Praha: Maxdorf, 2012, 491 s., ISBN 978-80-7345-298-8.

16. 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.
17. 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.
18. NAGATA, Y. Stereotactic Body Radiotherapy for Early Stage Lung Cancer. *Cancer Res Treat*, 2013, 45, 3, p. 155-161, ISSN 1598-2998.
19. ZATLOUKAL, P. Chemoterapie karcinomu plic. *Farmakoterapie*, 2005, 1, Suppl. 1, p. 76–80, ISSN 1803-6597.
20. LASKIN, J. J., 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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. 6771-83, ISSN 1078-0432.
28. 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.
29. 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. 1734–40, ISSN 1556-0864.
30. 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. 2371-6, ISSN 0923-7534.
31. 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.
32. SKÁCEL, Z., ZATLOUKAL, P., ASCHERMANOVÁ, A., et al. Terapie nemalobuněčného bronchogenního karcinomu. s. 127-142. In: PEŠEK, M., ed. *Bronchogenní karcinom*. Praha: Galén, 2002, 235 s., ISBN 80-7262-115-7.



33. 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.
34. ETTINGER, D.S., ed. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-Small Cell Lung Cancer Version 3.2011. 2011, [cit. 12.12.2012]. Dostupný z WWW: <http://www.nccn.org>, ISSN 1540-1413.
35. VYZULA, R., ed. Zásady cytostatické léčby maligních onkologických onemocnění. 13. vydání. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2011, 230 s., ISBN 978-80-904989-0-7.
36. 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.
37. 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.
38. POLET, F., 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.
39. CLAESSEON-WELSH, L., WELSH, M. VEGFA and tumour angiogenesis. *J Intern Med*, 2013, 273, 2, p. 114-127, ISSN 1365-2796.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. FAGIANI, E., CHRISTOFORI, G. Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Lett*, 2013, 328, 1, p. 18-26, ISSN 0304-3835.
44. KLENER, P. Etiologie a patogeneze nádorového procesu. s. 39-70. In: KLENER, P., ed., *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002, 686 s., ISBN: 80-7262-151-3.
45. 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.
46. 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.
47. 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.
48. ROWINSKY, E.K. Signal events: Cell signal transduction and its inhibition in cancer. *Oncologist*, 2003, 8, Suppl 3, p. 5-17, ISSN 1083-7159.
49. 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.
50. 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.
51. 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.

52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. RICHTER, M., ZHANG, H. Receptor-targeted cancer therapy. *DNA Cell Biol*, 2005, 24, 5, p. 271-282, ISSN 1044-5498.
56. OCANA, A., PANDIELLA, A. Targeting HER receptors in cancer. *Curr Pharm Des*, 2013, 19, 5, p. 808-817, ISSN 1381-6128.
57. MUKHERJI, S.K. Bevacizumab (Avastin). *AJNR Am J Neuroradiol*, 2010, 31, 2, p. 235-6, ISSN 0195-6108.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. 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.
66. PIPERDI, B., LING, Y.H., KROOG, G., et al. Schedule-dependent interaction between epidermal growth factor inhibitors (EGFRi) 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.
67. 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.

68. 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.
69. HERBST, R.S., 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.
70. 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.
71. 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.
72. FIALA, O., PESEK, M., FINEK, J., et al. Skin rash as useful marker of erlotinib efficacy in NSCLC and its impact on clinical practice. *Neoplasma*, 2013, 60, 1, p. 26-32, ISSN 1338-4317.
73. 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.
74. 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.
75. 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.
76. 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.
77. 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.
78. 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. 947-57, ISSN 0028-4793.
79. 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.
80. YANG, J., CH-H, SCHULER, M.H., YAMAMOTO, N. LUX-Lung 3: A randomized, open-label, phase III study of afatinib versus pemetrexed and cisplatin as first-line treatment for patients with advanced adenocarcinoma of the lung harboring EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol*, 2012, 30, 18, Suppl. LBA7500, ISSN 1527-7755.
81. 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.
82. REYNOLDS, N.A., WAGSTAFF, A.J. Cetuximab in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Drugs*, 2004, 64, 1, p. 109-118, ISSN 0012-6667.
83. 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.
84. 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.
  85. 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.
  86. 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.
  87. KIM, D.W., AHN, M.J., SHI, Y., et al. Results of a global phase II study with crizotinib in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol*, 2012, 30, suppl. abstr 7533, ISSN 1527-7755.
  88. 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.
  89. 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.
  90. HEIGENER, D. F., 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.
  91. 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.
  92. 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.
  93. 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.
  94. 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.
  95. 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.
  96. 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.
  97. 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.
  98. 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.

99. 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.
100. 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.
101. 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.
102. 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.
103. 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.
104. 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.
105. 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.
106. 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.
107. 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.
108. 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.
109. 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.
110. 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.
111. 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.
112. 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.

113. 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.
114. 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.
115. 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.
116. 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.
117. 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.
118. 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.
119. 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.
120. 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.
121. 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.
122. 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.
123. 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.
124. 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.
125. 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.
126. 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.

- 127.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.
- 128.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.
- 129.MALUMBRES, M., BARBACID, M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3, 6, p. 459-465, ISSN 1474-175X.
- 130.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.
- 131.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.
- 132.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.
- 133.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 .
- 134.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.
- 135.RODENHUIS, S., 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.
- 136.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.
- 137.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.
- 138.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.
- 139.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.
- 140.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.
- 141.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.
- 142.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.
- 143.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.

144. 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.
145. 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.
146. 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.
147. Al MULLA, F., 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.
148. 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.
149. 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.
150. 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.
151. 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.
152. 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
153. 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.
154. 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.
155. 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.
156. 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.
157. 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.



- 158.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.
- 159.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.
- 160.THERASSE, P., ARBUCK, S.G., EISENHAEUER, E.A., et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. 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.
- 161.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.
- 162.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.
- 163.De ROOCK, W.D., CLAES, B., BEMASCONI, D., et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol*, 2010, 11, 8, p. 753–762, ISSN 1470-2045.
- 164.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.
- 165.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.
- 166.RIELY, G.J., PAO, W., PHAM, D.K., et al. Clinical Course of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Epidermal Growth Factor Receptor Exon19 and Exon 21 Mutations Treated with Gefitinib or Erlotinib. *Clin Cancer Res*, 2006, 12, 3 (Pt1), p. 839-844, ISSN 1078-0432.
- 167.JACKMAN, D.M., YEAP, B.Y., SEQUIST, L.V., et al. Exon 19 Deletion Mutations of Epidermal Growth Factor Receptor Are Associated with Prolonged Survival in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Gefitinib or Erlotinib. *Clin Cancer Res*, 2006, 12, 13, p. 3908-3914, ISSN 1078-0432.
- 168.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.
- 169.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.
- 170.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.
- 171.HAUGEN, 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.
- 172.PHILLIPS, D.H. Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. *Carcinogenesis*, 2002, 23, 12, p. 1979-2004, ISSN 0143-3334.

## SEZNAM OBRÁZKŮ

---

**Obrázek 1** - Graf **A** ukazuje časový vývoj incidence a mortality karcinomu plic v naší populaci. Graf **B** ukazuje časový vývoj incidence podle pohlaví v naší populaci

**Obrázek 2** - Graf ukazuje srovnatelnou účinnost uvedených kombinací cytostatika III. generace s platinovým derivátem (cisplatina/karboplatina)

**Obrázek 3** - Vazba ligandů na receptory rodiny HER (ErbB)

**Obrázek 4** - Aktivace EGFR signální dráhy – tvorba heterodimeru – fosforylace TK domény – aktivace dalších signálních drah

**Obrázek 5** - Komplexní pohled na EGFR signální dráhy

**Obrázek 6** - Srovnání přežití pacientů ve studii E4599

**Obrázek 7** - Inhibice EGFR signální dráhy na úrovni TK domény

**Obrázek 8** - Srovnání přežití u pacientů léčených erlotinibem, dle výsevu kožního exantému

**Obrázek 9** - Srovnání přežití pacientů ve studii BR.21

**Obrázek 10** - Srovnání PFS pacientů ve studii OPTIMAL

**Obrázek 11** - Srovnání PFS pacientů ve studii EURTAC

**Obrázek 12** - Srovnání PFS pacientů ve studii SATURN u všech pacientů

**Obrázek 13** - 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 14** - Srovnání přežití pacientů ve studii INTEREST

**Obrázek 15** - 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 16** - Srovnání PFS pacientů ve studii Lux lung 3

**Obrázek 17** - Srovnání OS ve studii FLEX

**Obrázek 18** - Srovnání přežití pacientů ve studii BMS099

**Obrázek 19** - Léčebná odpověď u pacientů s přestavbou genu ROS1 léčených crizotinibem

**Obrázek 20** - Schematické znázornění zapojení onkoproteinu KRAS do signální dráhy a důsledků mutace jeho genu

**Obrázek 21** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR a jejich typů u pacientů s NSCLC

**Obrázek 22** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle histologického typu NSCLC

**Obrázek 23** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle pohlaví

**Obrázek 24** - Výskyt aktivačních mutací genu EGFR podle kuřáctví

**Obrázek 25** - Srovnání přežití mezi pacienty s aktivační mutací genu EGFR a pacienty s *wild-type* EGFR genem

**Obrázek 26** - Srovnání přežití mezi pacienty s delecí na 19. exonu a pacienty s bodovou mutací na 21. exonu [L858R]

**Obrázek 27** - Srovnání přežití pacientů s aktivační mutací genu EGFR podle histologického typu (adenokarcinom *vs.* skvamózní karcinom)

**Obrázek 28** - Srovnání přežití podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR u pacientů s adenokarcinomem

**Obrázek 29** - Srovnání přežití podle přítomnosti aktivační mutace genu EGFR u pacientů se skvamózním karcinomem

**Obrázek 30** - Sumarizace výskytu aktivačních mutací genu EGFR a mutací genu KRAS u pacientů s NSCLC

**Obrázek 31** - Typy mutace genu KRAS u pacientů s NSCLC

**Obrázek 32** - Výskyt mutací genu KRAS podle histologického typu NSCLC

**Obrázek 33** - Výskyt mutací genu KRAS podle pohlaví

**Obrázek 34** - Výskyt mutací genu KRAS podle kuřáctví

**Obrázek 35** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací genu KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem

**Obrázek 36** - Srovnání přežití mezi pacienty s G12C KRAS mutací a pacienty s nonG12C KRAS mutací

**Obrázek 37** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací G12C KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem

**Obrázek 38** - Srovnání přežití mezi pacienty s mutací nonG12C KRAS a pacienty s *wild-type* KRAS genem, *wild-type* EGFR genem

**Obrázek 39** - Přehled užití prvoliniové léčby

**Obrázek 40** - Srovnání dosažené léčebné odpovědi

**Obrázek 41** - Srovnání přežití pacientů léčených v první linii chemoterapií a pacientů léčených EGFR-TKI

**Obrázek 42 - Srovnání výskytu nežádoucích účinků léčby**

## SEZNAM TABULEK

---

**Tabulka 1** - Histopatologická klasifikace NSCLC dle WHO

**Tabulka 2** - TNM staging – kritéria pro hodnocení

**Tabulka 1** - TNM staging – rozdělení podle stadií

**Tabulka 3** - Kritéria hodnocení ECOG PS

**Tabulka 4** - Kombinace pro léčbu první linie u NSCLC

**Tabulka 5** - Charakteristika souboru pacientů vyšetřených na přítomnost aktivační mutace genu EGFR

**Tabulka 6** - Charakteristika souboru pacientů vyšetřených na přítomnost aktivační mutace genu EGFR a mutace genu KRAS

**Tabulka 7** - Charakteristika souboru pacientů léčených v první linii chemoterapií nebo EGFR-TKI

## PŘEDNÁŠKOVÁ A PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA

---

### PŘEDNÁŠKY:

Fiala O., Solfronk J., Ingeliová E., Hess Z.: Hlavní hodnoty variability tepové frekvence a jejich ovlivnění antropometrickými parametry, 46. Studentská vědecká konference, Plzeň 2006.

Fiala O., Ingeliová E., Kielberger L., Urbánková J., Mayer O. Jr.: Prediktivní potenciál zvýšeného NT-pro BNP u pacientů se stabilizovanou ischemickou chorobou srdeční, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

Ingeliová E., Fiala O., Kielberger L., Urbánková J., Mayer O. Jr.: Mortalita pacientů se stabilizovanou ICHS v letech 1995 a 2000 ve studiích EuroAspire I a II a její predikující faktory, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

Solfronk J., Honzík J., Fiala O., Rosolová H.: Význam C reaktivního proteinu zjištěného vysoce senzitivní metodou u nemocných s diabetem 2. typu, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

Fiala O., Brůha J., Vyčítal O., Liška V., Třeška V.: Embolizace portální žíly – experimentální model, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

*Umístění na prvním místě v pregraduální sekci.*

Brůha J., Vyčítal O., Fiala O., Liška V., Třeška V.: Tumor Necrosis Factor alpha – stimulant regenerace jater po embolizaci portální žíly, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

Vyčítal O., Fiala O., Brůha J., Liška V., Třeška V.: Vliv TNF alpha na jaterní funkce po embolizaci portální žíly, 47. Studentská vědecká konference, Plzeň 2007.

Fiala O., Brůha J., Vyčítal O., Liška V., Třeška V.: Tumour Necrosis Factor-Alpha Stimulates Liver Regeneration After Partial Portal Vein Ligation, Cena za lékařství 2007, Praha 2007.

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, 18th European Students' Conference, Berlin 2007.

*Umístění na prvním místě v chirurgické sekci.*

Liška V., Třeška V., Mírka H., Kobr J., Sýkora R., Skalický T., Sutnar A., Brůha J., Fiala O., Vyčítal O., Chlumská A., Holubec L., Matejovič M., Topolčan O.: Use of Cytokines of Inflammatory Response in Process of Liver Regeneration in Porcine Model of Partial Portal Vein Ligation, CECHTUMA 2008, Plzeň 2008.

Petřlová B., Rosolová H., Solfronk J., Fiala O.: Kotníko-pažní tlakový index u nemocných s diabetem 2. typu a kardiovaskulární riziko, XII. kongres o ateroskleróze, Špindlerův mlýn 2008.

Fiala O., Solfronk J., Rosolová H.: Kotníko-pažní index u nemocného s diabetem 2. typu a kardiovaskulární riziko, 48. Studentská vědecká konference, Plzeň 2008.

Brůha J., Fiala O., Vyčítal O., Liška V., Třeška V.: Interleukinleukin-6 stimuluje regeneraci jater v experimentálním modelu embolizace portální žíly, 48. Studentská vědecká konference, Plzeň 2008.

Fiala O., Vyčítal O., Brůha J., Liška V., Třeška V.: Intraportální aplikace prasečích mezenchymálních kmenových buněk zvyšuje regeneraci jater po parciální ligaci portální žíly., 48. Studentská vědecká konference, Plzeň 2008.

***Umístění na prvním místě v pregraduální sekci.***

Brůha J., Vyčítal O., Fiala O., Liška V., Třeška V.: Tumour Necrosis Factor-Alpha Stimulates Liver Regeneration After Partial Portal Vein Ligation – Experimental Study on Porcine Model, 21st International Medical Sciences Student Congress, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul 2008.

Vyčítal O., Brůha J., Fiala O., Liška V., Třeška V.: Tumour Necrosis Factor-Alpha Stimulates Liver Regeneration After Partial Portal Vein Ligation – Experimental Study on Porcine Model, 16th international student scientific conference for student and young doctors, Gdansk 2008.

Brůha J., Vyčítal O., Fiala O.: Intraportální aplikace prasečích mezenchymálních kmenových buněk zvyšuje regeneraci jater po parciální ligaci portální žíly, Studentská vědecká konference lékařských fakult ČR a SR, Košice 2008.

***Práce oceněna druhým místem v klinické sekci.***

Krejčí J., Pešek M., Fiala O., Brůha F., Mukenšnabl P., Minárik M., Štícha M.: Linie biologické léčby a chemoterapie – význam pro dobu do progresu a délku přežití u nemocných s nemalobuněčným plicním karcinomem, XVII. Západočeské pneumoonkologické dny, Darová 12. - 13. 11. 2009.

Bittenglová R., Fiala O., Mukenšnabl P., Hess O.: Poléková plicní toxicita, Kasuistická sdělení z pneumologie a fizeologie, Praha, 4.12.2009.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Minárik M., Belšánová B.: Mutace KRAS u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic, Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 9.2. 2010.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Minárik M., Belšánová B.: Význam typu KRAS mutace u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic, 50. Studentská vědecká konference, Plzeň 2010.

Benešová L., Pešek M., Belšánová B., Fiala O., Mukenšnabl P., Minárik M.: Shrnutí současného stavu ve vyšetřování prediktorů KRAS a EGFR pro předpověď účinnosti biologické cílené léčby NSCLC. XXXIV. Brněnské onkologické dny a XXIV. Konference pro sestry a laboranty, Brno 2010.

Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Mutace KRAS onkogenu u nemalobuněčného karcinomu plic. Jsou všechny nepříznivým prediktorem účinnosti cílené léčby? Večer kliniky tuberkulózy a nemocí respiračních, 29.9. 2010, Plzeň.

Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Význam typu K-RAS mutace u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic., 18. Západočeské pneumoonkologické dny; 11. - 12. 11. 2010, Darová.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Štícha M., Minárik M.: Srovnání chemoterapie a erlotinibu ve II. linii léčby pokročilého NSCLC., 18. Západočeské pneumoonkologické dny; 11. - 12. 11. 2010, Darová.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Štícha M., Minárik M.: Srovnání chemoterapie a erlotinibu ve II. linii léčby pokročilého NSCLC., XXXV. Brněnské onkologické dny, 21. – 23. 4. 2011, Brno.

Pešek M., Benešová L., Brůha F., Mukenšnabl P., Kopečková M., Bittenglová R., Fiala O., Šefrna F., Minárik M.: Epigenetická vyšetření u progredujících pokročilých nemalobuněčných karcinomů plic., XXXV. Brněnské onkologické dny, 21. – 23. 4. 2011, Brno.

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.6.2011, Plzeň.

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M., Bortlíček Z.: Pemetrexed v léčbě pokročilého NSCLC – první zkušenosti., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.6.2011, Plzeň.

Pešek M., Benešová L., Brůha F., Mukenšnabl P., Kopečková M., Bittenglová R., Fiala O., Šefrna F., Minárik M.: Epigenetická vyšetření u progredujících pokročilých nemalobuněčných karcinomů plic., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.6.2011, Plzeň.

Pešek M., Pešta M., Kulda V., Šafránek J., Fiala O., Bittenglová R., Mukenšnabl P., Topolčan O.: Expresí genů ERCC1, BRCA1, RRM1, TIMP1, TS ve vztahu k léčebné odpovědi na chemoterapii u nemalobuněčného karcinomu plic., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.6.2011, Plzeň.

Holubec L., Votavová M., Fiala O., Matějka V. M., Arnetová V., Topolčan O., Fínek J.: Panitumumab in herapy of patients with advanced metastasizing colorectal carcinoma – personal clinical experience., The 39th Meeting of the International Society of Oncology and Biomarkers, 15.10.2011, Florence.

Pešek M., Benešová L., Pešta M., Grossmann D., Mukenšnabl P., Fiala O., Minárik M.: Nové terče a nové magické střely v léčbě nemalobuněčného karcinomu plic., 19. Západočeské pneumoonkologické dny; 10. - 11. 11. 2011, Darová.

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Bortlíček Z., Krejčí J., Minárik M.: Mutace genu EGFR u pacientů s pokročilým NSCLC., 19. Západočeské pneumoonkologické dny; 10. - 11. 11. 2011, Darová.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Říčař J., Bortlíček Z., Minárik M.: Rash jako prediktor odpovědi na léčbu erlotinibem a možnost jeho využití v klinické praxi., 19. Západočeské pneumoonkologické dny; 10. - 11. 11. 2011, Darová.



Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Význam mutací EGFR u NSCLC., Večer onkologického a radioterapeutického oddělení FN Plzeň, 11.1.2012, Plzeň.

Votavová M., Holubec L., Fiala O., Matějka V. M., Fínek J.: Panitumumab v léčbě metastazujícího kolorektálního karcinomu. Večer onkologického a radioterapeutického oddělení FN Plzeň, 11.1.2012, Plzeň.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Brůha F., Bortlíček Z., Minárik M.: Význam histologického typu NSCLC, nositelů mutace genu EGFR., XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Pešek M., Benešová L., Kopečková M., Belšánová B., Fiala O., Minárik M.: Možnosti genetických testování a metylační analýzy cirkulující volné nádorové DNA (tumor cell-free DNA) izolované z periferní krve nemocných NSCLC. XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Holubec L., Votavová M., Fiala O., Matějka V. M., Dreslerová J., Salvét J., Fínek J.: Panitumumab v monoterapii v léčbě nemocných s pokročilým metastazujícím kolorektálním karcinomem. XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Holubec L., Matějka V. M., Dreslerová J., Kulhánková J., Fiala O., Mrázková P., Fínek J.: Bevacizumab v monoterapii u nemocných metastazujícím kolorektálním karcinomem. XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Matějka V. M., Holubec L., Mukenšnábl P., Ondič O., Dreslerová J., Šamanová T., Fiala O., Faistová H., Mrázková P., Fínek J.: Vzácné nádory srdce – angiosarkomy. Dvě klinické kazuistiky. XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Holubec L., Fiala O., Pešek M., Matějka V. M., Mrázková P., Fínek J.: Metronomická léčba u nemocných s gastroenteropankreatickými neuroendokrinními tumory (GEP-NETs). XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Krejčí J., Říčař J., Bortlíček Z., Minárik M.: Rash u pacientů s NSCLC léčených erlotinibem jako potenciální prediktor léčebného efektu., XXXVI. Brněnské onkologické dny, 19.–20. 4. 2012, Brno.

Pešek M., Benešová L., Kopečková M., Belšánová B., Fiala O., Minárik M.: Options of genetic testing and methylation analysis of circulating free tumor DNA (tumor cell-free DNA) isolated from peripheral blood of NSCLC patients. 13th. Central European Lung Cancer Conference, 24.-27.6. 2012, Praha.

Pešek M., Pešta M., Kulda V., Fiala O., Šafránek J., Topolčan O., Krákorová G., Černý R.: Prognostický význam ERCC1, RRM1, a BRCA1 u chirurgicky léčených pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic., 20. Západočeské pneumoonkologické dny; 8.-9. 11. 2012, Darová.

Minárik M., Benešová L., Belšánová B., Kopečková M., Fiala O., Pešek M.: Možnosti minimálně-invazivního vyšetření molekulárních prediktorů léčby NSCLC na základě analýzy cirkulující nádorové DNA z periferní krve., 20. Západočeské pneumoonkologické dny; 8.-9. 11. 2012, Darová.

Pešek M., Grossmann P., Mukenšnábl P., Brůha F., Fiala O., Benešová L., Minárik M.: Vývoj a stav vyšetřování řídicích mutací u nemalobuněčných karcinomů plic ve FN Plzeň., 20. Západočeské pneumoonkologické dny; 8.-9. 11. 2012, Darová.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: EGFR-TKI vs. chemoterapie v 1. linii léčby pacientů s pokročilým NSCLC, nositelů mutace EGFR., 20. Západočeské pneumoonkologické dny; 8.-9. 11. 2012, Darová.

Pešek M., Grossmann P., Mukenšnábl P., Brůha F., Fiala O., Benešová L., Minárik M.: Vývoj a stav vyšetřování řídicích mutací u nemalobuněčných karcinomů plic ve FN Plzeň., XXVII. Brněnské onkologické dny, 18.-19.4. 2013, Brno.

Holubec L., Kulhánková J., Fiala O., Mrázková P., Fínek J.: Bevacizumab v monoterapii u nemocných s metastazujícím kolorektálním karcinomem., XXVII. Brněnské onkologické dny, 18.-19.4. 2013, Brno.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Krejčí J., Havel L., Hrciarik M., Salajka F., Bortlíček Z., Benešová L., Minárik M.: Erlotinib v léčbě pacientů se skvamózním NSCLC. Večer onkologického a radioterapeutického oddělení FN Plzeň, 12.6.2013, Plzeň.

Fiala O.: EGFR-TKI v 1. Linii léčby NSCLC., 21. Západočeské pneumoonkologické dny; 1.-8.11. 2013, Darová.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Sekvenční léčba u pacientů s adenokarcinomem plic., 21. Západočeské pneumoonkologické dny; 1.-8.11. 2013, Darová.

## **POSTERY:**

Liška V., Třeška V., Mírka H., Kobr J., Sýkora R., Skalický T., Sutnar A., Brůha J., Fiala O., Vyčítal O., Chlumská A., Holubec L., Kormunda S., Trefil L., Racek J., Matějovič M.: Tumour necrosis factor-alpha stimulates liver regeneration in porcine model of partial portal vein ligation, 1st Central European Congress of Surgery 2008, 23-26.4. 2008, Praha.

***Oceněno jako nejlepší poster v sekci experimentální práce.***

Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Význam typu K-RAS mutace u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic., XXXV. Brněnské onkologické dny, 21. – 23. 4. 2011, Brno.

Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Význam typu K-RAS mutace u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.2011, Plzeň.

Fiala O., Pešek M., Minárik M.: Význam typu K-RAS mutace u pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic. 2. pražské mezioborové onkologické kolokvium, 27. - 28.1.2011, Praha.

Fiala O., Pešek M., Krejčí J., Štícha M., Minárik M.: Srovnání chemoterapie a erlotinibu ve II. linii léčby pokročilého NSCLC., XVII. Kongres ČPFS, 23.-24.6.2011, Plzeň.

Pesek M., Benesova L., Bruha F., Bittenglova R., Fiala O., Sefrna F., Kopeckova M., Minarik M.: DNA Hypermethylation in Progressive Advanced Non Small Cell Lung Cancer., 14th World Conference on Lung Cancer, 3.-7.8.2011, Amsterdam, Holandsko.

Fiala O., Pesek M., Krejci J., Sticha M., Minarik M.: Chemotherapy Versus Erlotinib in the Second Line Treatment of Non-small Cell Lung Cancer., 14th World Conference on Lung Cancer, 3.-7.8.2011, Amsterdam, Holandsko.

Pešek M., Benešová L., Brůha F., Mukenšnabl P., Kopečková M., Bittenglová R., Fiala O., Krákorová G., Šefrna F., Minárik M.: DNA Hypermethylation in Progressive Advanced Non Small Cell Lung Cancer, 36th Congress ESMO, 23 – 27.9.2011, Stockholm, Švédsko.

Fiala O., Pešek M., Benešová L., Belšánová B., Minárik M.: The Role of Specific KRAS Mutation Types in Response to Treatment by EGFR Inhibitors, 36th Congress ESMO, 23 – 27.9.2011, Stockholm, Švédsko.

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhotrvajícím přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory., VII. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 9. - 11.11.2011, Olomouc.

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., 3. pražské mezioborové onkologické kolokvium, 26. - 27.1.2012, Praha.

***Práce oceněna 1. místem v soutěži o nejlepší poster postgraduálního studenta.***

Fiala O., Pesek M., Finek J., Benesova L., Minarik M.: Retreatment with Erlotinib in NSCLC Harboring EGFR Mutation – Case Report., 13th. Central European Lung Cancer Conference, 24.-27.6. 2012, Praha.

Fiala O., Pesek M., Finek J., Bruha F., Bortlicek Z., Krejci J., Benesova L., Minarik M.: EGFR Mutations in Patients with Advanced NSCLC., 13th. Central European Lung Cancer Conference, 24.-27.6. 2012, Praha.

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., 13th. Central European Lung Cancer Conference, 24.-27.6. 2012, Praha.

Holubec L., Fiala O., Matějka V. M., Podlipný J., Dreslerová J., Vrzalová J., Topolčan O., Fínek J., Svoboda T.: The difference in the serum levels of BDNF, IL-6, IL-8, IL-10 and EGF in oncology patients dividend according to the presence of symptoms of depression, 37th Congress ESMO, 28.9.-2.10. 2012, Vídeň, Rakousko.

Fiala O., Pešek M., Finek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Význam EGFR amplifikace u pacientů s NSCLC, nositelů wild-type EGFR genu, léčených EGFR-TKI., VIII. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 29.-30.11. 2012, Olomouc.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Minárik M.: Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem., VIII. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 29.-30.11. 2012, Olomouc.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Srovnání EGFR-TKI a chemoterapie v první linii léčby *EGFR* M+ pacientů s pokročilým stadiem NSCLC., 4. pražské mezioborové onkologické kolokvium, 26. - 27.1.2013, Praha.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Mutace genů EGFR, KRAS a PIK3CA u pacientů s NSCLC skvamózní histologie a jejich význam pro predikci efektu léčby EGFR-TKI., XXVII. Brněnské onkologické dny, 18.-19.4. 2013, Brno.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Krejčí J., Havel L., Hrcniarik M., Salajka F., Bortlíček Z., Benešová L., Minárik M.: Erlotinib v léčbě NSCLC skvamózní histologie., XXVII. Brněnské onkologické dny, 18.-19.4. 2013, Brno.

Fiala O., Pesek M., Fínek 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. EMCTO 2013, 19.-11.5.2013, Lugano, Švýcarsko.

Ricar J., Fiala O., Krejci J., Pizinger K., Pesek M., Holubec L., Fínek J., Cetkovska P.: Cutaneous side-effects of erlotinib treatment in patients with non-small cell lung cancer: A prospective study of 580 patients. Sjezd Evropské dermatologické společnosti, 2.-6.10.2013, Istanbul, Turecko.

Pesek M., Grossmann P., Mukensnabl P., Bruha F., Fiala O., Benesova L., Minarik M.: NSCLC Molecular portrait of the sample of Czech population and indications of targeted therapy. 15th World Conference on Lung Cancer, 27.-30.10.2013, Sydney, Austrálie.

Fiala O., Pesek M., Fínek J., Benesova L., Minarik M., Bortlicek Z., Topolcan O.: Predictive role of tumor markers in patients with advanced-stage NSCLC treated with erlotinib. 15th World Conference on Lung Cancer, 27.-30.10.2013, Sydney, Austrálie.

Fiala O., Pesek M., Fínek J., Benesova L., Bortlicek Z., Minarik M.: Sequential treatment with erlotinib and pemetrexed in pretreated patients with lung adenocarcinoma. 15th World Conference on Lung Cancer, 27.-30.10.2013, Sydney, Austrálie.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Bortlíček Z., Benešová L., Minárik M., Topolčan O.: Význam onkomarkerů CEA a CYFRA 21-1 pro predikci efektu léčby erlotinibem u pacientů s pokročilým NSCLC. 5. pražské mezioborové onkologické kolokvium, 22. – 24. 1. 2014, Praha.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Bortlíček Z., Minárik M.: Koncept sekvenční terapie u pacientů s adenokarcinomem plic. 5. pražské mezioborové onkologické kolokvium, 22. – 24. 1. 2014, Praha.

***Práce oceněna 1. místem v soutěži o nejlepší poster postgraduálního studenta.***

## **PUBLIKACE S IF:**

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Krejčí J., Havel L., Hrnčiarik M., Salajka F., Bortlíček Z., Benešová L., Minárik M.: Erlotinib in the treatment of advanced squamous cell NSCLC. *Neoplasma*, 2013, 60, 6, p. 676-682.

## **PUBLIKACE BEZ IF**

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)

Liška V., Třeška V., Brůha J., Fiala O., Vyčítal O.: Regenerace jater, *Vesmír*, 86, 2007.

Fiala O.: Nové možnosti biologicky cílené léčby pokročilého nemalobuněčného karcinomu plic – sunitinib a sorafenib. *Studia Pneumologica et Phthiseologica*, 2010, 70, 3, s. 113-116.

Fiala O., Pešek M., Brůha F., Minárik M.: Analýza pacientů s pokročilým NSCLC s dlouhodobým přežitím bez progresu při léčbě EGFR tyrozinkinázovými inhibitory. *Studia Pneumologica et Phthiseologica*, 2011, 71, 3, s. 100-104.

Fiala O., Bittenglová R., Pešek M., Mukenšnabl P.: Amiodaronová plicní toxicita – kazuistika. *Studia Pneumologica et Phthiseologica*, 2011, 71, 5, s. 214-218.

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.

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. *Studia pneumologica et phthiseologica*. 2012, 72, 3, s. 137-141.

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.***

Benešová L., Belšánová B., Kopečková M., Fiala O., Pešek M., Mináriková P., Lipská L., Levý M., Zaoral M., Minárik M. Možnosti vyšetřování molekulárních prediktorů onkologické léčby z cirkulující volné nádorové DNA. *Časopis lékařů českých*. 2013, 152, 2, s. 92-93.

Fiala O., Pešek M., Fínek J., Benešová L., Tupý R., Minárik M. Mutace KRAS (G12S) u pacienta s NSCLC léčeného erlotinibem - kazuistika. *Studia pneumologica et phthiseologica*. 2013, 73, 3, s. 105-108.

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.

Holubec L., Fiala O., Šefrhansová L., Matějka V.M., Liška V., Třeška V., Fínek J. Nový prediktivní biomarker RAS: křižovatka nebo pokračování v nastolené cestě? *Onkologie*. 2013, roč. 7, č. 5, s. 246-247.

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.