

# Receptor epidermalnog faktora rasta mutacije adenokarcinoma pluća

---

Rebić, Ante

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:265073>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-17**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ante Rebić**

**Receptor epidermalnog faktora rasta  
mutacije adenokarcinoma pluća**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2017.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za tumore sredoprsja Klinike za plućne bolesti Jordanovac Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof.dr.sc. Suzane Kukulj i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016/2017.

## POPIS KRATICA

ALK - *anaplastic lymphoma kinase* - kinaza anaplastičnog limfoma

DNA - *deoxyribonucleic acid* - deoksiribonukleinska kiselina

EGFR - *epidermal growth factor receptor* - receptor epidermalnog čimbenika rasta

KRAS - *kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog* - homolog Ki-ras kodiran virusom

Kirsten sarkoma

NSCLC - *non small cell lung cancer* - rak pluća ne-malih stanica

PCR - *polymerase chain reaction*- lančana reakcija polimerazom

PFS - *progression free survival* - preživljenje bez napredovanja bolesti

RR - *relative risk* - relativni rizik

SCLC - *small cell lung cancer* - rak pluća malih stanica

TKI - *tyrosine kinase inhibitor* - inhibitor tirozin kinaze

UICC - *Union for International Cancer Control* - Međunarodna unija za kontrolu raka

# SADRŽAJ

POPIS KRATICA

SAŽETAK

SUMMARY

1. Uvod .....	1
1.1. Adenokarcinom pluća .....	1
1.2. Mutacije u raku pluća.....	2
1.3. EGFR receptor .....	2
1.4. EGFR mutacije adenokarcinoma pluća .....	3
1.5. Tirozin kinazni inhibitori .....	3
2. Materijali i metode.....	7
2.1. Ispitanici .....	7
2.2. Testiranje na EGFR mutacije.....	7
2.3. Način obrade podataka .....	8
3. Ciljevi rada .....	9
4. Rezultati.....	10
5. Rasprava .....	16
6. Zaključak.....	18
7. Zahvale .....	19
8. Literatura.....	20
9. Životopis .....	23

## SAŽETAK

Receptor epidermalnog faktora rasta mutacije adenokarcinoma pluća

Ante Rebić

Uvod: Rak pluća je u Hrvatskoj kod muškarca na prvom, a kod žena na drugom mjestu po učestalosti sijela novodijagnosticiranih karcinoma. EGFR mutacije su značajno zastupljene kod žena i nepušača sa dijagnosticiranim adenokarcinomom pluća. Dokaz aktivirajućih EGFR mutacija otvara mogućnost liječenja TKI terapijom koja značajno unaprijeđuje preživljenje bez progresije bolesti pacijenata.

Materijali i metode: Analizirano je 57 ispitanika sa primarnim adenokarcinomom, 1 ispitanik sa primarnim adenoplanocelularnim i 1 ispitanik sa karcinomom ne-malih stanica pluća liječenih na Klinici za plućne bolesti Jordanovac kojima je pozitivan EGFR mutacijski status određen u periodu 12.1.2015. – 7.1.2016.. godine.

Rezultati: Od ukupno 59 ispitanika 79.7 % je ženskog, a 20.3% muškog spola. Medijan dobi pri dijagnozi primarnog procesa kod muškaraca je bio 60, a kod žena 66 godina. Većina ispitanika je pri dijagnozi bila u stadijima IIIB-IV(62.7%). Većina ispitanika su bili nepušači (69.5%), zatim bivši pušači(23.7%) i pušači(6.8%). Najčešće mutacije su bile delecije u egzonu 19 (32/59 ; 54.2%) te L858R mutacija u egzonu 21 (12/59 ; 20.3%). Od 59 ispitanika 34 su primili neki oblik TKI terapije (57.6%). Svaki pacijent je u prosjeku primio 14.9 ciklusa TKI. Inhibirajuća T790M mutacija je bila prisutna kod 4 pacijenta (6.8%).

Zaključak: Dvije najzastupljenije mutacije bile su egzon 19 delecija i mutacija L858R. Porast broja inhibirajućih T790M mutacija u odnosu na 2014. godinu navodi važnost ponovnog testiranja pacijenata sa dokazanim pozitivnim EGFR mutacijskim statusom. Dokazivanjem ove mutacije povezane sa stečenom rezistencijom na TKI terapiju otvara se mogućnost za uporabu osimertiniba, TKI treće generacije.

Ključne riječi: adenokarcinom pluća, mutacije receptora epidermalnog faktora rasta, inhibitori tirozin kinaza

## **SUMMARY**

Epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma

Ante Rebić

Introduction: Lung cancer represents the most common cancer site in males, while in females it holds the second place. EGFR mutations are significantly expressed in females and never-smokers with diagnosed lung adenocarcinoma. Evidence of activating EGFR mutations opens up the possibility of TKI treatment that may significantly improve progression-free survival.

Materials and methods: A total of 59 patients with primary lung adenocarcinoma treated at the Clinical Center for Pulmonary Diseases Jordanovac that were tested positive on EGFR mutations in 2015 were analysed.

Results: Among the 59 patients, 79.7% were females and 20.3% were males. The mean age at the diagnosis of the primary process was 60 years and in females 66 years. The majority of patients presented at the diagnosis with stages IIIB-IV (62.7%). The patients were predominantly never-smokers (69.5%), followed by former smokers (23.7%), and smokers (6.8%). The most common mutations were exon 19 deletion (32/59 ; 54.2%) and L858R mutation in exon 21 (12/59 ; 20.3%). Of 59 patients, 34 received some form of TKI therapy. Every patient received on average 14.9 cycles of TKI therapy. Inhibiting T790M mutation was present in 4 patients (6.8%)

Conclusion: The two most common mutations were exon 19 deletion and L858R mutation. The increase in number of T790M mutations in comparison to the year 2014 implies the importance of re-testing the patients with positive EGFR mutations. The detection of this mutation related to the acquired resistance to TKI therapy opens up the possibility of treatment with third generation TKI osimertinib.

Keywords: lung adenocarcinoma, epidermal growth factor receptor mutations, tyrosin-kinase inhibitors

# 1. Uvod

## 1.1. Adenokarcinom pluća

Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske za 2014. godinu rak traheje, bronha i pluća čini 19% novih slučajeva karcinoma kod muškaraca te 8% novih slučajeva karcinoma kod žena u Republici Hrvatskoj. Time je rak traheje, bronha i pluća kod muškaraca na prvom, a kod žena na drugom mjestu po učestalosti sijela novodijagnosticiranih karcinoma.(1)

Zbog razlika u kliničkoj prezentaciji, prognozi i terapijskom pristupu rak pluća dijelimo u dvije skupine: rak pluća ne-malih stanica(*non small cell lung cancer* – NSCLC) i rak pluća malih stanica (*small cell lung cancer*, SCLC). NSCLC se dijeli na adenokarcinom(40-45%), rak pločastih stanica(30%) i rak velikih stanica(10-15%). SCLC čini 15% svih karcinoma pluća (2)

U posljednjih par desetljeća incidencija adenokarcinoma pluća raste u većini zemalja svijeta. Adenokarcinom je sada najčešći histološki tip karcinoma pluća zamijenivši karcinom pločastih stanica.(3) Većinom nastaje u perifernim dijelovima pluća, a manji dio nastaje endobrohalno. Mikroskopski, tumor se sastoji od žlijezda obloženih nepravilnim cilindričnim epitelnim stanica.(4) Predominantni je tip karcinoma pluća među nepušačima i ženskom spolu.(3) Rizikni čimbenik za razvoj adenokarcinoma pluća je pušenje. Pušači sa pušačkim stažom 30-40 godina imaju relativni rizik 2.4 u usporedbi sa nepušačima, a oni sa pušačkim stažom iznad 40 godina imaju relativni rizik 5.(5)

Adenokarcinom pluća često metastazira u: pleuru, limfne čvorove, mozak, kosti i nadbubrežne žlijezde.(6)



## 1.2. Mutacije u raku pluća

Rak pluća nastaje kao rezultat niza mutacija koje mogu biti stečene tijekom života ili naslijeđene. Među brojnim mutacijama u svojoj važnosti/kliničkim implikacijama ističu se sljedeće:

- EGFR(*epidermal growth factor receptor*) mutacija nalazi se u oko 10% bijelaca sa rakom pluća ne-malih stanica(*non small cell lung cancer*, NSCLC), te u oko 40% Azijaca s istom bolešću. Prema rezultatima rada Brčića i suradnika udio EGFR mutacija na reprezentativnom uzorku novodijagnosticiranih NSCLC za Republiku Hrvatsku u istraživanom dijelu 2014.godine iznosi 15.7%. (7)
- ALK(*anaplastic lymphoma kinase*) – EML 4 fuzija, prisutna je u oko 5% bolesnika s NSCLC-om.
- KRAS mutacija nalazi se u oko 20-30% bolesnika s adenokarcinomom pluća.

## 1.3. EGFR receptor

Receptor epidermalnog čimbenika rasta (EGFR) ima važnu ulogu u započinjanju signalnih puteva epitelnih stanica te tumora epitelnog podrijetla. EGFR pripada obitelji receptora tirozin kinaza c-erbB te je također poznat pod imenom c-erbB-1 i HER-1. EGFR je glikoprotein koji se sastoji od izvanstanične receptorske domene.

Pretjerana ekspresija EGFR proteina dokumentirana je *in vitro* i *in vivo* na velikom broju malignih stanica: debelog crijeva, gušterače, karcinoma ne-malih stanica pluća, dojke, bubrega, jajnika, glioma, mokraćnog mjehura i mnogih drugih.(8)

#### **1.4. EGFR mutacije adenokarcinoma pluća**

Somatske mutacije unutar tirozin kinazne domene EGFR-a se nalaze u približno 12% adenokarcinoma pluća kod bijelaca(9) te su one najvažniji prediktor odgovora na EGFR tirozin kinazne inhibitore poput erlotiniba i gefitiniba.(10)

In-frame delecije u egzonu 19 i egzon 21 L858R substitucije su najčeće EGFR mutacije te zajedno čine približno 90% mutacija. (11)

Predklinčki modeli su prepoznali razne manje česte mutacije koje su povezane sa odgovorom na EGFR tirozin-kinazne inhibitore. Substitucijske mutacije G719X, L861Q, i S768I bile su od posebnog interesa. Prema nedavnom epidemiološkim testiranju u Aziji, ove tri mutacije čine približno 6% svih EGFR mutacija(12)

Pacijenti koji pokazuju napredovanje bolesti unatoč terapiji TKI inhibitorima su heterogena grupa, sa više mehanizama u podlozi, od kojih je T790M mutacija najčešća.(13)

#### **1.5. Tirozin kinazni inhibitori**

Prije otkrića terapije EGFR inhibitorima, većina pacijenata sa karcinomom ne-malih stanica pluća (NSCLC) su preživljavali manje od godinu dana unatoč kombiniranim kemoterapijskim režimima baziranim na platini.(14)

Liječenje odabranih pacijenata sa uznapredovalim NSCLC se revolucionarno promijenilo otkrićem i posljedičnim ciljanjem na EGFR signalni lanac. Sljedeća napredovanja su dovela do kombinirane histološke i genski usmjerene terapije koja je pacijentima dala pristup personaliziranoj, molekularno usmjerenoj terapiji.(13)

EGFR tirozin kinazni inhibitori su male molekule koje djeuju tako da blokiraju EGFR autofosforilaciju te posljedično time receptorsku aktivaciju i prijenos signala.

TKI prve generacije, erlotinib i gefitinib su oralni bioraspoloživi sintetski anilinokinazolini koji se reverzibilno vežu sa visokim afinitetom na intracelularnu tirozin kinaznu domenu EGFR kompetitivno inhibirajući ATP vezanje. Nove generacije EGFR TKI su aktivne prema mnogostrukim receptorskim metama ErbB i/ili se vežu za tirozin-kinaznu domenu ireverzibilno. (15)

Uporaba EGFR tirozin-kinaznih inhibitora je počela 2003. u SAD-u gdje su se po prvi puta davali pacijentima sa uznapredovalim NSCLC koji nisu imali odgovora na sve dostupne kemoterapeutike.(16) Neki pacijenti, pogotovo oni sa adenokarcinomom pluća, su pokazali značajan i dugotrajan antitumorski odgovor.(17,18) Kako je klinička uporaba EGFR TKI napredovala u globalne kliičke studije, određene karakteristike, poput histologije tipa adenokarcinoma, ženskog spola, nepušenja i azijske rase, su se povezale sa povećanim odgovorom na EGFR TKI.(19–23)

Tragalo se za molekularnim prediktorima, za koje se smatralo da su pouzdaniji od kliničkih karakteristika, kako bi se identificiralo pacijente koji bi imali najviše koristi od terapije EGFR TKI. Početni izvještaji iz 2004. o somatskim mutacijama *EGFR* gena kod pacijenata sa NSCLC koji su odgovorili na terapiju TKI su bili najviše obećavajući.(19,24) Dvije mutacije EGFR gena kod takvih pacijenata, exon 19 delecija i exon 21 L858R substitucija, bile su prepoznate. Važno je napomeniti da rane studije nisu pokazale povećanje preživljenja u molekularno neselektiranih pacijenata koji su primali kemoterapiju sa TKI ili samo kemoterapiju. Prosječno preživljenje kod takvih pacijenata je bilo slično standardu kemoterapije bazirane na platini.(25)

Aktivirajuće EGFR mutacije imaju prediktivnu vrijednost na odgovor na EGFR TKI inhibitore gefitinib, erlotinib i afatinib. Takvo liječenje rezultira u poboljšanoj stopi odgovora (eng. response rate,RR) i preživljavanju bez napredovanja bolesti (eng. progression-free survival, PFS), boljoj podnošljivosti, i poboljšanoj kvaliteti života u usporedbi sa kemoterapijom baziranoj na platini u prvoj liniji što se dokazalo u više randomiziranih studija.(26)

Prema smjernicama Europskog društva za medicinsku onkologiju terapija EGFR TKI u prvoj liniji je standard za uznapredovale karcinome ne-malih stanica pluća sa aktivirajućom EGFR mutacijom. Ako se ustvrdi EGFR aktivirajuća mutacija tijekom platinom bazirane kemoterapije u prvoj liniji, preporuka je nastaviti kemoterapiju do 4 ciklusa, te uvesti TKI terapiju kao terapiju održavanja kod pacijenata koji su uspostavili kontrolu bolesti, ili kao drugu liniju za vrijeme progrediranja bolesti. Kod pacijenta čija je bolest progredirala uz uporabu TKI, preporuča se rebiopsija u svrhu pretrage za inhibirajućom T790M mutacijom. Osimertinib, lijek treće generacije EGFR TKI se preporuča u pacijenata koji su razvili inhibirajuću T790M mutaciju. Kada je rebiopsiju nemoguće učiniti, ili kada se mutacija T790M nije uspjela dokazati kod pacijenata koji su progredirali uz terapiju EGFR TKI, preporuka je uvesti dublet kemoterapiju baziranu na spojevima platine.(9)

Klinički relevantni EGFR inhibitori tirozin kinaza se po generacijama dijele na:

### **EGFR TKI 1. generacije**

Najznačajniji predstavnici su erlotinib i gefitinib.

**Gefitinib (Iressa)** je prvi potentni inhibitor EGFR tirozin kinaze koji je uveden kao terapija karcinoma ne-malih stanica pluća refraktornog ili rezistentnog na citotoksičnu terapiju.(27)

2009. godine Europska komisija je dozvolila uporabu gefitiniba u svim linijama terapije kod pacijenata sa lokalno uznapredovalim ili metastatskim NSCLC sa aktivirajućim mutacijama EGFR-a.

**Erlotinib** je drugi inhibitor EGFR tirozin kinaze koji je odobren kao terapija uznapredovalog karcinoma ne-malih stanica pluća poslije neuspjeha bar jednog citotoksičnog terapijskog režima.(23)

Europska komisija 2011. godine dozvolila je uporabu erlotiniba u prvoj liniji kod lokalno uznapredovalih i metastatskih NSCLS sa aktivirajućim EGFR mutacijama.

## **EGFR TKI 2. Generacije**

**Afatinib** je ireverzibilni inhibitor EGFR tirozin kinaze druge generacije (28)

Kovalentno, ireverzibilno vezanje afatiniba za razliku od ostalih TKi inhibitora koji se reverzibilno vežu ima kao rezultat neprekidnu i selektivnu blokadu ErbB obitelji receptora(29)

U dvije velike studije treće faze, afatinib u prvoj liniji je značajno unaprijedio ukupno preživljenje u odnosu na kemoterapiju kod pacijenata sa karcinomom ne-malih stanica pluća koji su imali EGFR del19 mutacije, kao i preživljenje bez napredovanja bolesti te aktivnosti dnevnog života pacijenata sa EGFR mutacijama neovisno o tipu mutacija.

Europska komisija 2013. godine odobrila je uporabu afatiniba u prvoj liniji metastatskih NSCLC sa aktivirajućim EGFR mutacijama. (30,31)

## **EGFR TKI 3. GENERACIJE**

**Osimertinib** (AZD9291) – potentni, ireverzibilni TKI koji selektivno cilja EGFR aktivacijske mutacije, uključujući T790M rezistencijsku mutaciju, pritom imajući nizak afinitet za EGFR divljeg tipa.

Europska komisija 2017. godine dozvolila je uporabu osimertiniba kod lokalno uznapredovalih ili metastatskih NSCLC sa inhibirajućom T790M mutacijom.(32)

## 2. Materijali i metode

### 2.1. Ispitanici

U ovom radu analizirano je 57 ispitanika sa primarnim adenokarcinomima, 1 ispitanik sa primarnim adenoplanoceularnim karcinomom i 1 pacijent sa karcinomom nemalnih stanica pluća liječenih na Klinici za plućne bolesti Jordanovac Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb 2015. godine. kojima je u vremenskom periodu 12.1.2015. – 7.1.2016. određen pozitivan EGFR mutacijski status. Tijekom analize korištena je medicinska dokumentacija Klinike za plućne bolesti Jordanovac. Pušač je definiran kao pacijent koji je popužio najmanje 100 cigareta u životu i dalje je nastavio pušiti. Bivši pušač je definiran kao pacijent koji je popužio najmanje 100 cigareta u životu ali trenutno ne puši. Nepušač je definiran kao pacijent koji nikada nije pušio ili je popužio manje od 100 cigareta u životu. Za određivanje stadija bolesti pri dijagnozi korišteno je 7. izdanje UICC (*Union for International Cancer Control*) TNM klasifikacije.

### 2.2. Testiranje na EGFR mutacije

DNA je ekstrahirana iz tkiva fiksiranog u formalin i uklopljenog u parafin te iz citoloških uzoraka. DNA je bila ekstrahirana pomoću Cobas DNA Sample Preparation Kit-a (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Mjerenje DNA kvantitete je vršeno pomoću Nanodrop ND-1000 spektrofotometra (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, SAD). Uzorci su testirani lančanom reakcijom polimerazom (PCR) u Cobas z 480 analizatoru (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka ) koristeći Cobas EGFR Mutaton test koji može detektirati 41 mutaciju u egzonima 18,19,20 i 21 EGFR gena (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka)(7)

### 2.3. Način obrade podataka

Statistički izračuni provedeni su pomoću programa Excel (Office 2016), uz korištenje sljedećih formula:

za srednju vrijednost:  $(\bar{X} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N X_i = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_N}{N})$ , pri čemu je  $N$  broj ispitanika, a  $x_i$  dob pojedinog ispitanika),

medijan ( $Me = L1 + \frac{N/2 - \sum_{i=1}^{m-1} m_i}{m}$ , pri čemu je  $L1$  - donja prava granica medijanog razreda,  $N/2$  - polovina elemenata statističkog niza,  $\sum_{i=1}^{m-1} m_i$  - zbroj svih apsolutnih frekvencija do medijalnog razreda, ne uključujući medijalni razred,  $m$  - apsolutna frekvencija medijalnog razreda,  $i$  - veličina medijanog razreda), te postotak kao udio ispitivane varijable u ukupnom broju ispitanika

### 3. Ciljevi rada

Cilj ovog rada je prikazati karakteristike pacijenta sa EGFR pozitivnim primarnim adenokarcinomima pluća liječenih na Klinici za plućne bolesti Jordanovac čiji je mutacijski status određen u vremenskom periodu 12.1.2015. – 7.1.2016.

Specifični ciljevi rada su:

- Prikazati raspodjelu EGFR pozitivnih pacijenata po spolu
- Prikazati raspodjelu EGFR pozitivnih pacijenata po dobi
- Prikazati raspodjelu po stadijima bolesti
- Prikazati udio pušača, bivših pušača i nepušača kod pacijenata
- Prikazati udjele različitih vrsta EGFR mutacija kod svih pacijenata
- Prikazati raspodjelu EGFR mutacija po spolu i pušačkim navikama
- Prikazati uporabu kemoterapijskih lijekova po linijama terapije.
- Prikazati uporabu tirozin kinaznih inhibitora po linijama terapije kod pacijenata liječenih TKI.



## 4. Rezultati

Od 59 EGFR pozitivnih nalaza, 43 su potjecala iz citoloških uzoraka (43/59 ; 72.9%), a 16 iz histopatoloških uzoraka (16/59 ; 27.1%)

Od ukupno 59 ispitanika, njih 47 (79.7 %) je ženskog spola, a 12 (20.3%) muškog spola. Dob pri dijagnozi primarnog procesa kod muškaraca je bila u rasponu 53-71 (medijan 60), a kod žena 35-78 (medijan 66). Od ukupnog broja ispitanika 41 su bili nepušači (41/59 ;69.5%), 14 bivši pušači(14/59 ; 23.7%) i 4 pušača(4/59 ; 6.8%).

Većina ispitanika je pri dijagnozi bila u stadijima IIIB-IV(37/59 ; 62.7%), 11 ispitanika je pri dijagnozi bila u stadijima II-III A(11/59 ; 18.6%), 9 ispitanika u stadiju I (9/59 ; 15.3%), a za 2 ispitanika stadij nije bio određen (2/59 ; 3.4%).

Unutar grupe ispitanika najčešće su bile delecije u egzonu 19 (32/59 ; 54.2%), L858R točkaste mutacija u egzonu 21 (12/59 ; 20.3%), insercije u egzonu 20 (5/59 ; 8.5%), G719X točkaste mutacije u egzonu 18(2/59 ; 3.4%) , delecija u egzonu 20 (1/59 ; 1.7%). Više od jedne EGFR mutacije imalo je 7 pacijenata: aktivirajuća mutacija u egzonu 19 + inhibirajuća T790M mutacija u egzonu 20 (4/59 ; 6.8%) , aktivirajuća G719X mutacija u egzonu 18 + inhibirajuća S768i mutacija u egzonu 20 (2/59 ; 3.4%) , aktivirajuća delecija u egzonu 19S + inhibirajuća insercija u egzonu 20 (1/59 ; 1.7%).

Tablica 1 Raspodjela EGFR mutacija po spolu i pušačkim navikama

	SPOL		PUŠENJE		
	M	Ž	P	B	N
EGFR MUTACIJA PRISUTNA	<b>12</b>	<b>47</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>41</b>
egzon 19 delecija	8	24	2	5	25
L858R	1	11	1	3	8
egzon 20 insercija	2	3	1	2	2
G719X	1	1	0	0	2
Egzon 20 delecija	0	1	0	0	1
egzon 19 delecija + T790M	0	4	0	3	1
G719X + S768i	0	2	0	1	1
egzon 19 delecija + egzon 20 insercija	0	1	0	0	1

Od 59 ispitanika 34 su primili neki oblik TKI terapije (34/59 ; 57.6%),8 ispitanika nije primalo kemoterapiju (8/59 ; 13.6%), a 17 ispitanika je liječeno kemoterapeutičima bez TKI inhibitora (17/59 ; 28.8%)

Prvu liniju kemoterapije primio je 51 pacijent (51/59 ; 86.4%) . Svi pacijenti koji su primili prvu liniju kemoterapije liječeni su kemoterapijskim režimima baziranim na platini (51/51 ; 100.0%).

Drugu liniju kemoterapije primilo je 35 pacijenata (35/59 ; 59.3%). Od njih je 28 primilo TKI terapiju (28/35 ; 80.0%),4 pemetreksedom(4/35 ;11.4%), 2 kemoterapijski režim baziran na platini (2/35 ; 5.7%) a 1 pacijent je primio terapiju docetakselom(1/35 ; 2.9%).

Treću liniju kemoterapije primilo je 13 pacijenata (13/59 ; 22.0%). Od njih je 7 primilo TKI terapiju (7/13 ; 53.8%) , 2 docetaxel (2/13 ; 15.4%), 2 gemcicabini (2/13 ; 15.4%), 1 gemcicabin + cisplatina 1(1/13 ; 7.7%), pemetreksed + cisplatina(1/13 ; 7.7%).

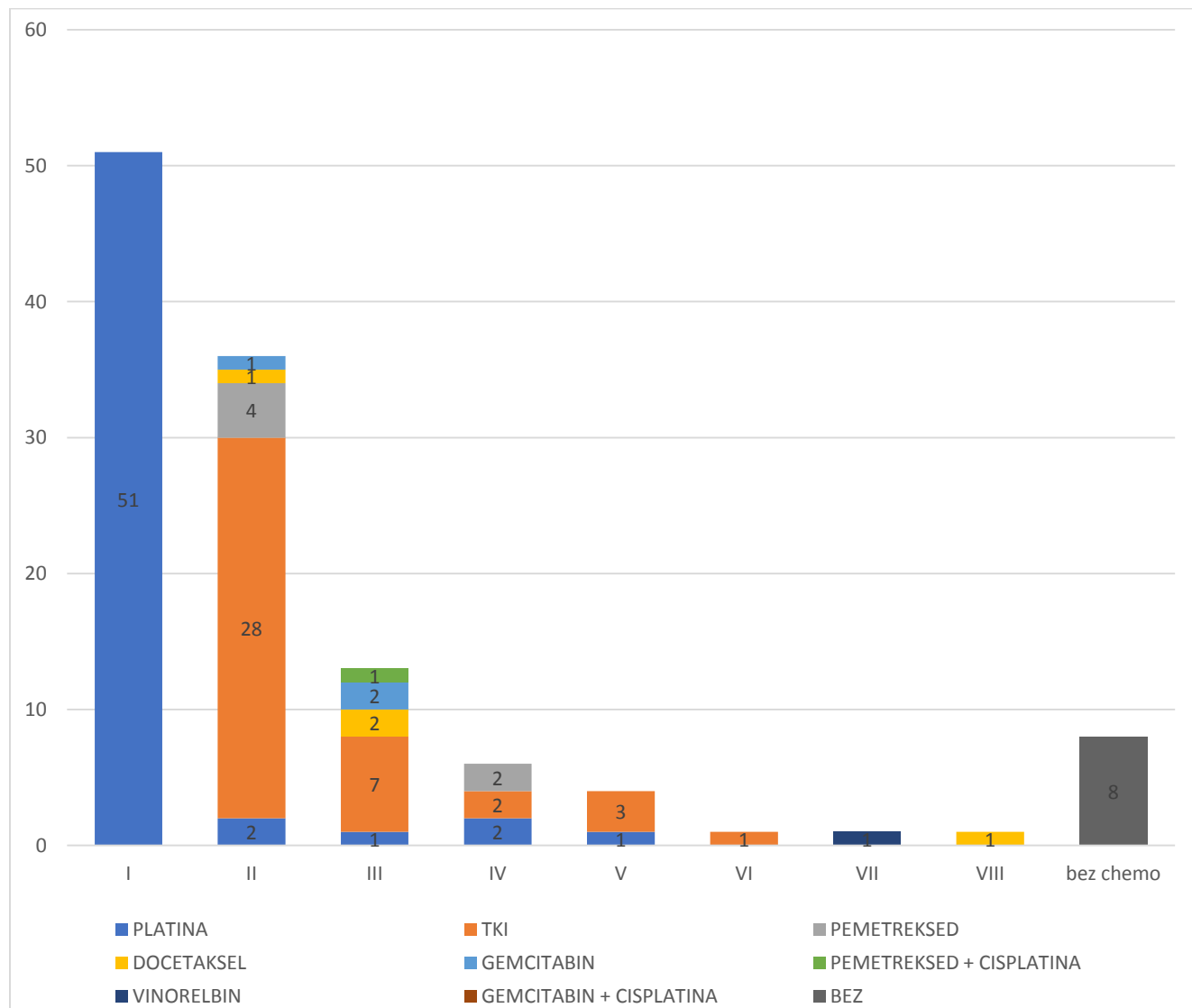
Četvrtu liniju kemoterapije primilo je 7 pacijenata (7/59 ; 11.9%). Od njih je 2 primilo TKI terapiju (2/7 ; 28.6%) , 2 paklitaxel + karboplatinu (2/7 ; 28.6%), 2 pemetreksed (2/7 ; 28.6%) 1 gemcicabin + cisplatinu (1/7 ; 14.3%)

Petu liniju kemoterapije primila su 4 pacijenta (4/59 ; 6.8%). Od njih je 3 primilo TKI terapiju(3/4 ; 75.0%) a 1 terapiju paklitaxelom i karboplatinom (1/4 ; 25.0%).

Šestu liniju kemoterapije primio je 1 pacijent (1/59 ; 1.7%) aplikacijom TKI.

Sedmu liniju kemoterapije primio je 1 pacijent (1/59 ; 1.7%) aplikacijom vinorelbina.

Osmu liniju kemoterapije primio je 1 pacijent (1/59 ; 1.7%) aplikacijom docetaksela.



Slika 1 Prikaz uporabe kemoterapeutika po linijama liječenja

Od 34 ispitanika koji su liječeni TKI terapijom, 26 je TKI terapiju primilo samo u drugoj liniji (26/34 ; 76.5%) , 1 samo u trećoj liniji (1/34 ; 2.9%) , 7 je TKI terapiju primalo u više linija (7/34 ; 20.6%)

Tablica 2 Prikaz uporabe TKI kod pacijenata koji su TKI primali u dvije ili više različitih linija.

I. Linija	II.Linija	III. Linija	IV. Linija	V. Linija	VI. Linija
	Gefitinib I	Erlotinib I			
	gefitinib XIV		Osimertinib XII		
		erlotinib IX	gefitinib X		
		erlotinib XV		erlotinib II	
		Erlotinib XXX			erlotinib XIX
		Tarceva XXX		Osimertinib XIV	
		Erlotinib XLVI		Erlotinib IV	

Svaki pacijent je u prosjeku primio 14.9 ciklusa TKI, muškarci u prosjeku 11.9 ciklusa, a žene 15.8.

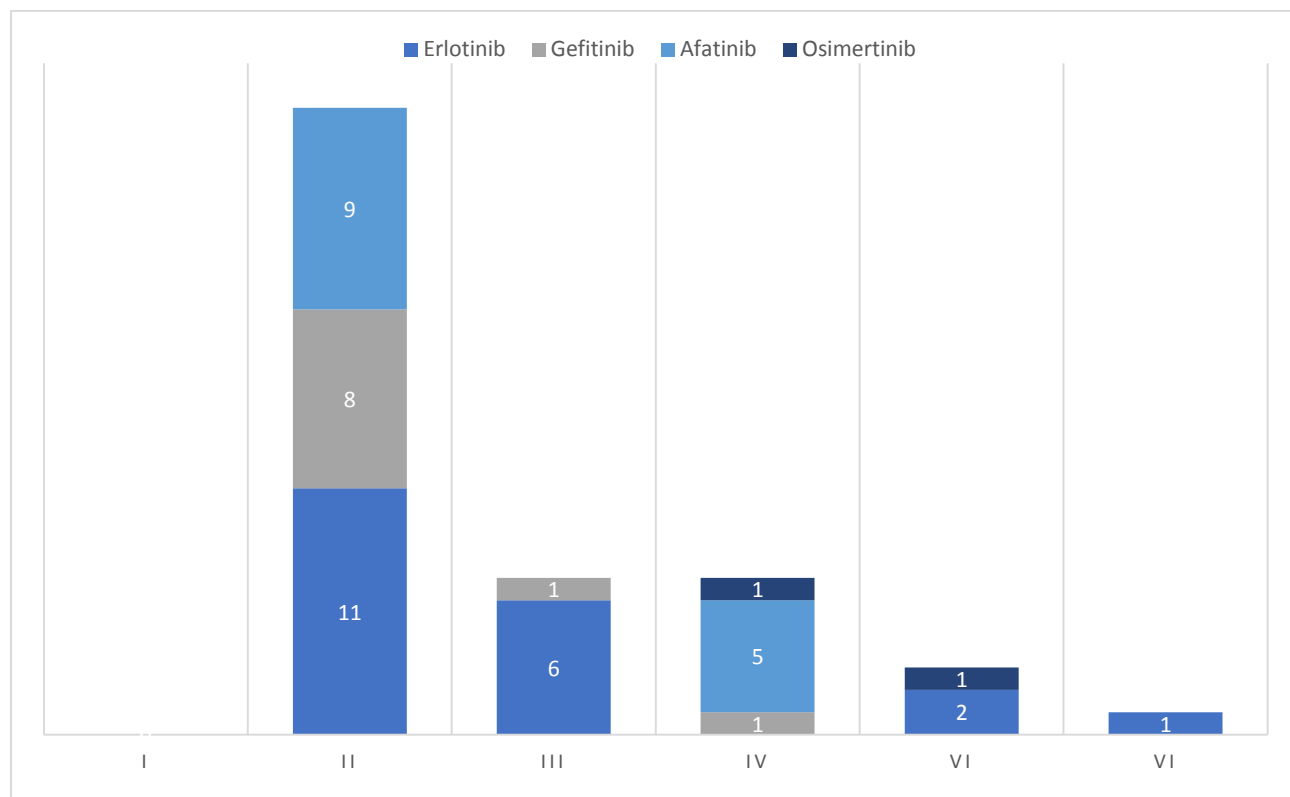
Od 28 pacijenata koji su primili TKI terapiju u drugoj liniji 11 je liječeno erlotinibom (11/28 ; 39.3%) u prosjeku sa 11.6 ciklusa, 9 je liječeno afatinibom (9/28 ; 32.1%) u prosjeku sa 10.1 ciklusom, a 8 je liječeno gefitinibom (8/28 ; 28.6%) u prosjeku sa 8.1 ciklusom.

Od 7 pacijenata koji su primili TKI terapiju u trećoj liniji 6 je liječeno erlotinibom (6/7 ; 85.7%) u prosjeku sa 21.8 ciklusa, 1 je liječen gefitinibom (1/7 ; 14.3%) sa 14 ciklusa.

Od 2 pacijenata koji su primili TKI terapiju u četvrtoj liniji 1 je liječen osimertinibom (1/2 ; 50.0%) sa 12 ciklusa a drugi je pacijent liječen gefitinibom (1/2 ; 50.0%) sa 10 ciklusa.

Od 3 pacijenata koji su primili TKI terapiju u petoj liniji 2 su liječena erlotinibom (2/3 ; 66.7%) u prosjeku sa 3.0 ciklusa, a 1 je pacijent liječen osimertinibom (1/3 ; 33.3%) sa 14 ciklusa.

1 pacijent je primio TKI terapiju u šestoj liniji erlotinibom u 19 ciklusa.



Slika 2 Uporaba inhibitora tirozin kinaza po linijama liječenja

Od 4 pacijenta kojima je dokazana inhibirajuća T790M mutacija 2 su primili terapiju osimertinibom. Jedan je primio 12 ciklusa u četvrtoj liniji, a drugi 14 ciklusa u petoj liniji.

Tablica 3 Prikaz kemoterapijskog liječenja po linijama kod pacijenata kojima je dokazana T790M mutacija te su liječeni sa osimertinibom.

I. Linija	II. Linija	III. Linija	IV. Linija	V. Linija
paklitaxel + karboplatina II	gefitinib XIV	gemcitabin I	<b>osimertinib XII</b>	
paklitaxel + karboplatina VI	Pemetrexed VI	Tarceva XXX	paklitaxel + karboplatina IV	<b>osimertinib XIV</b>

## 5. Rasprava

U ovom radu prikazane su karakteristike pacijenta sa EGFR pozitivnim primarnim adenokarcinomima pluća (u daljnjem tekstu EGFR pozitivni pacijenti) liječenih na Klinici za plućne bolesti Jordanovac čiji je mutacijski status određen u vremenskom periodu 12.1.2015. – 7.1.2016. Klinika za plućne bolesti Jordanovac je referentni centar za plućne bolesti u Republici Hrvatskoj gdje se dijagnosticira i liječi više od 60% karcinoma pluća(7)

Prema rezultatima ovog rada EGFR pozitivni pacijenti su većinom bili ženskog spola (79.7%) i nepušači (69.5%). Dob pri dijagnozi primarnog procesa kod muškaraca je bila niža (medijan 60), nego kod žena (medijan 66). Većina ispitanika je pri dijagnozi bila u inoperabilnim kliničkim stadijima IIIB-IV(62.7%).

Unutar grupe ispitanika najčešće su bile delecije u egzonu 19 (32/59 ; 54.2%), L858R točkaste mutacija u egzonu 21 (12/59 ; 20.3%) što je u skladu sa nalazima istraživanja u svijetu(11). U usporedbi sa rezultatim istraživanja Brčića i suradnika sa iste ustanove gdje su ispitanici bili novodijagnosticirani pacijenti sa adenokarcinomima, adenoskvamoznim karcinomima i NSCLC-NOS(7) u periodu 1.5.2014 to 1.11.2014. opaža se sljedeće:

Tijekom 2015. su egzon 19 delecije bile češće nego u dijelu 2014. iz navedenog istraživanja 54.2% prema 45.1%, dok su L858R točkaste mutacija u egzonu 21 bile manje zastupljene 2015. ( 20.3) u odnosu na istraživani dio iz 2014. (39.2 %).

U 2015. godini je također zastupljenost inhibirajućih T790M mutacija bila viša(4/59 ; 6.8%) u odnosu na promatrani dio prethodne godine (1/51 ; 2.0%)

Tablica 4 Usporedba raspodjele EGFR mutacija sa radom Brčića i suradnika za 2014. (7) Brojčani podaci u tablici su postotne vrijednosti.

<b>Vrsta Mutacije</b>	<b>2015.</b>	<b>Brčić i suradnici 2014.(7)</b>
Egzon 19 delecija	<u>54.2</u>	45.1
L858R	20.3	<u>39.2</u>
Egzon 20 insercije	<u>8.5</u>	3.9
G719X	3.4	<u>7.8</u>
egzon 19 delecija + T790m	<u>6.8</u>	0.0
G719x + S768i	<u>3.4</u>	2.0
egzon 19 delecija + egzon 20 insercija	<u>1.7</u>	0.0
L858R + T790M	0	<u>2.0</u>

Pregledom rezultata ova dva rada primjećuje se veća zastupljenost inhibirajućih mutacija egzon 20 insercija i T790M mutacija u dvije uzastopne godine na istoj ustanovi. Poglavitito je interesantan porast inhibirajućih T790M mutacija koje se prvenstveno vežu uz stečenu rezistenciju izazvanu prethodnom uporabom TKI terapije.



## 6. Zaključak

Ispitivani pacijenti sa EGFR pozitivnim primarnim adenokarcinomima pluća imaju iste karakteristike kao i pacijenti koji pripadaju bijeloj rasi u ostatku svijeta. Primarno se radi o ženama i nepušačima. Dvije najzastupljenije mutacije bile su očekivano egzon 19 delecija i točkasta mutacija L858R. Porast zastupljenosti inhibirajuće T790M mutacije u odnosu na prethodnu godinu navodi važnost ponovnog testiranja pacijenata kojima se prethodno dokazao pozitivan EGFR mutacijski status te su liječeni TKI terapijom. Pravovremenim otkrivanjem ove mutacije povezane sa stečenom rezistencijom na TKI terapiju otvara se mogućnost za uporabu osimertiniba, TKI treće generacije.

## 7. Zahvale

Najljepše se zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Suzani Kukulj na strpljenju, podršci i stručnosti koju mi je pružila u pisanju ovog rada.

Zahvaljujem se doc.dr.sc. Silvani Smojver - Ježek na ustupljenim podacima o EGFR testiranju ispitanika iz ovog rada te na strpljenju i stručnosti prilikom svakog mog upita.

Zahvalio bi se cijelom osoblju Odjela za tumore sredoprsja Klinike za plućne bolesti Jordanovac na strpljenju i svesrdnoj pomoći prilikom prikupljanja podataka za ovaj rad.

Zahvalio bi se svojoj obitelji bez koje ne bi bio tu gdje jesam. Mojoj majci Emiliji se zahvaljujem na strpljenju, energiji i ljubavi.

Na kraju, zahvalio bi se svome djedu Anti Rebiću na bezuvjetnoj podršci i trudu kojeg je uložio u mene.

## 8. Literatura

1. Šekerija Mario, Bubanović L, Novak P, Šelendić Đ, Lončar J, Čukelj P. Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2014. 2014;(39):1–44.
2. Vrdoljak E, Šamija M, Zvonko K, Marija P, Damir G, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb: Medicinska Naklada; 2013.
3. Nakamura H, Saji H. A worldwide trend of increasing primary adenocarcinoma of the lung. *Surg Today*. 2014;44(6):1004–12.
4. Damjanov I, Jukić S, Nola M. Patologija. Zagreb: Medicinska Naklada; 2011.
5. Kenfield SA, Wei EK, Stampfer MJ, Rosner A, Colditz GA. NIH Public Access. 2011;17(3):198–204.
6. Kumar & Clark. Kumar and Clark's Clinical Medicine, 8th Edition | Parveen Kumar, Michael Clark | ISBN 9780702044991. Saunders Ltd. 2012. 1304 p.
7. Brcic L, Jakopovic M, Misic M, Seiwerth F, Kern I, Smojver-jezek S, et al. Analysis of the frequency of EGFR, KRAS and ALK mutations in patients with lung adenocarcinoma in Croatia. *Diagn Pathol*. 2016;1–8.
8. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004;59(2 SUPPL.):21–6.
9. Novello S, Barlesi F, Califano R, Cufer T, Ekman S, Levrá MG, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016;27(Supplement 5):V1–27.
10. Ladanyi M, Pao W. Lung adenocarcinoma: guiding EGFR-targeted therapy and beyond. *Mod Pathol*. 2008;21:S16–22.
11. Sharma S V, Bell DW, Settleman JE, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(3):169–81.
12. Chiu C-H, Yang C-T, Shih J-Y, Huang M-S, Su W-C, Lai R-S, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor Treatment Response in Advanced Lung Adenocarcinomas with G719X/L861Q/S768I Mutations. *J Thorac Oncol*. 2015;10(5):793–9.
13. Tan C-S, Gilligan D, Pacey S. Treatment approaches for EGFR-inhibitor-resistant patients with non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol*. 2015;16(9):e447-59.
14. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2002;346(2):92–8.
15. Roengvoraphoj M, Tsongalis GJ, Dragnev KH, Rigas JR. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as initial therapy for non-small cell lung cancer: Focus

- on epidermal growth factor receptor mutation testing and mutation-positive patients. *Cancer Treat Rev.* 2013;39(8):839–50.
16. Cohen MH, Williams G a, Sridhara R, Chen G, Pazdur R. FDA drug approval summary: gefitinib (ZD1839) (Iressa) tablets. *Oncologist.* 2003;8(4):303–6.
  17. Fukuoka M. Multi-Institutional Randomized Phase II Trial of Gefitinib for Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21(12):2237–46.
  18. Kris MG, Natale RB, Herbst RS, Lynch Jr. TJ, Prager D, Belani CP, et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. *JAMA.* 2003;290(16):2149–58.
  19. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, 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):2129–39.
  20. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004;304(5676):1497–500.
  21. Han S-W, Kim T-Y, Hwang PG, Jeong S, Kim J, Choi IS, et al. Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol.* 2005;23(11):2493–501.
  22. Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, Horio Y, Hida T, Mori S, Hatooka S, Shinoda M, Takahashi T YY. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *J Clin Oncol.* 2005;25:13–20.
  23. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(2):123–32.
  24. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:13306–11.
  25. Chung C. Tyrosine kinase inhibitors for epidermal growth factor receptor gene mutation – positive non-small cell lung cancers : an update for recent advances in therapeutics. *J Oncol Pharm Pract.* 2015;22(3):461–76.
  26. Lee DH, Srimuninnimit V, Cheng R, Wang X, Orlando M. Epidermal Growth Factor Receptor Mutation Status in the Treatment of Non-small Cell Lung Cancer: Lessons Learned. *Cancer Res Treat.* 2015;47(4):549–54.
  27. Hartmann JT, Haap M, Kopp H-G, Lipp H-P. Tyrosine Kinase Inhibitors - A Review on Pharmacology, Metabolism and Side Effects. *Curr Drug Metab.* 2009;10(5):470–81.
  28. Keating GM. Afatinib: A review of its use in the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Drugs.* 2014;74(2):207–21.

29. Solca F, Dahl G, Zoepfel A, Bader G, Sanderson M, Klein C, et al. Target Binding Properties and Cellular Activity of Afatinib (BIBW 2992), an Irreversible ErbB Family Blocker. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012;343(2):342–50.
30. Sequist L V, Yang JC-H, Yamamoto N, O'Byrne K, Hirsh V, Mok T, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013;31(27):3327–34.
31. YL W, Zhou C, CP H, Feng J, Lu S, Huang Y, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(2):213–22.
32. Cross DAE, Ashton SE, Ghiorghiu S, Eberlein C, Nebhan CA, Spitzler PJ, et al. AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer. *Cancer Discov*. 2014;4(9):1046–61.

## 9. Životopis

### OSOBNI PODACI

**Ime i prezime:** Ante Rebić

**Datum i mjesto rođenja:** 19. 11.1992., Imotski, RH

**Adresa:** Kralja Tomislava 25, 21260 Imotski, RH

**Telefon:** 099/ 504 0994

**e-mail:** [anterebicmail@gmail.com](mailto:anterebicmail@gmail.com)

### OBRAZOVANJE

1999. - 2007. Osnovna škola Stjepan Radić Imotski

2007. - 2011. Prirodoslovno – matematička gimnazija dr. Mate Ujević Imotski

2011. - 2017. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, doktor medicine

### DEMONSTRATURE

2014.-2017. demonstrator na Katedri za fiziologiju i imunologiju

### AKTIVNOSTI

2016.-2017. Sudjelujem u znanstvenom radu Odjela za tumore sredoprsja Klinike za plućne bolesti Jordanovac

2016.-2017. Lokalni dužnosnik za profesionalne razmjene (LEO), CroMSIC Zagreb