

Status liganda programirane stanične smrti 1 (PD-L1) u pacijenata s pozitivitetom receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) kod dijagnoze nesitno-staničnog karcinoma pluća

Delimar, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:697157>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-13**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Petra Delimar

**Status liganda programirane stanične smrti 1 (PD-L1)
u pacijenata s pozitivitetom receptora za epidermalni
faktor rasta (EGFR) kod dijagnoze nesitno-staničnog
karcinoma pluća**

Diplomski rad



Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC-a
Zagreb pod vodstvom profesorice Lovorke Batelje-Vuletić i predan je na ocjenu u
akademske godine 2021./2022.

Popis oznaka i kratica

EGFR	Receptor epidermalnog čimbenika rasta, od engl. <i>Epidermal growth factor receptor</i>
IKR	Interkvartilni raspon
IP	Interval pouzdanosti
n	Broj bolesnika u uzorku
OI	Omjer izgleda
p	Statistička značajnost
PD-L1	Ligand receptora programirane stanične smrti 1, od engl. <i>Programmed death-ligand 1</i>
PD-1	Receptor programirane stanične smrti 1, od engl. <i>Programmed death-1</i>
SLO	Stopa lažnih otkrića
V	Statistik Shapiro-Wilk test
z	Standardizirani statistik Shapiro-Wilk test

Sadržaj

SAŽETAK	7
SUMMARY	9
1. UVOD	1
2. HIPOTEZA	1
3. CILJEVI RADA	6
3.1. Opći cilj	6
3.2. Specifični ciljevi	6
4. ISPITANICI I METODE	7
4.1. Ustroj istraživanja.....	7
4.2. Ciljana populacija	7
4.2.1. Vrsta i potrebna veličina uzorka	8
4.3. Ishod	8
4.4. Nezavisna varijabla.....	8
4.5. Ostale varijable	8
4.6. Postupci	9
4.7. Statistička analiza	9
5. REZULTATI	11
5.1. Karakteristike sudionika	11
5.2. Povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR.....	13
5.3. Povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti	14
5.4. Moderatorski učinci dobi, spola i stadija bolesti na povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR.....	15
5.4.1. Dob.....	15
5.4.2. Spol.....	15
5.4.3. Stadij	16
6. RASPRAVA	17
6.1. Sažetak glavnih rezultata	17
6.2. Usporedba s dosadašnjim ispitivanjima	17
6.3. Ograničenja istraživanja	20
7. ZAKLJUČCI	22
8. ZAHVALE	23
9. LITERATURA	24

10.

ŽIVOTOPIS.....29

SAŽETAK

Status liganda programirane stanične smrti 1 (PD-L1) u pacijenata s pozitivitetom receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) kod dijagnoze nesitno-staničnog karcinoma pluća

Cilj: Cilj ovog presiječnog istraživanja je istražiti povezanost između izraženost PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije za EGFR nakon prilagodbe za dob, spol i stadij.

Metode: U ovo unicentrično, ugniježдено, presiječno istraživanje je uključeno 525 bolesnika kojima se dijagnosticirao nesitnostanični karcinom pluća u razdoblju od 2018. do 2020. godine. Zavisna varijabla je bila ekspresija PD-L1 koja se klasificirala u tri skupine ovisno o patohistološkom nalazu: 1) negativna ekspresija kao manje od 1% PD-L1 pozitivnih stanica u tkivu tumora, 2) niska, određena kao 1-49% te 3) visoka, određena kao 50-100% PD-L1 pozitivnih stanica. Nezavisna varijabla je postojanje mutacije za EGFR. Podatci su skupljeni iz bolničkog informacijskog sustava te je napravljena statistička analiza.

Rezultati: Medijan (IKR) dobi sudionika iznosio je 65 (60-70) godina, ukupni raspon dobi bio je od 31 do 84 godine. Pozitivan EGFR status zabilježen je kod 64 (12,2%) bolesnika, a visoka izraženost PD-L1 kod 140 (26,7%). Povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom bila je statistički značajna nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti (Multivarijabilina ordinalna regresija; $OR = 0,55$ (95% CI 0,32; 0,95); $p = 0,031$; $SLO < 5\%$) Nakon prilagodbe za spomenute čimbenike, procijenjena vjerojatnost da će bolesnik s pozitivnim EGFR statusom imati visoku izraženost PD-L1 iznosila je 0,17 (95% CI 0,09; 0,24), za razliku od bolesnika s negativnim EGFR statusom kod kojih je procijenjena vjerojatnost za visoki PD-L1 iznosila 0,27 (0,23; 0,31).

Zaključak: Izraženost PD-L1 u nesitnostaničnom karcinomu pluća je statistički značajno povezana s EGFR statusom i nakon prilagodbe za dob, spol i stadij. Povezanost je inverzna, sudionici s mutacijom za EGFR imaju 50% manje šanse da imaju visoku izraženost PD-L1.

SUMMARY

Programmed death ligand-1 (PD-L1) status in patients with an epidermal growth factor receptor (EGFR) positivity in non-small cell lung carcinoma

Goals: The aim of this cross-sectional study was to investigate the existence of a correlation between the expression of PD-L1 and the mutation for the EGFR in non-small cell lung cancer.

Methods: This nested, cross-sectional, unicentric research included 525 patients that were diagnosed with non-small cell lung cancer between 2018 and 2020. The dependent variable of the study was the expression of PD-L1. The expression of PD-L1 was classified into three subgroups depending on the pathohistological finding. Negative expression of PD-L1 was defined as less than 1% of PD-L1 positive cells in the tumor tissue, low expression of PD-L1 was defined as the finding of between 1-49% of PD-L1 positive cells in the tumor tissue and high expression of PD-L1 was defined as the existence of more than 50% of PD-L1 positive cells in the tumor tissue. The independent variable was the existence of an EGFR mutation. The data was collected from the hospital information system and analyzed by a clinical statistician.

Results: The median age of participants was 65 (60-70) years, with the age range being 31 to 84 years. 64 (12,2%) participants were positive for the EGFR mutation. 140 participants had a high expression of PD-L1. The correlation between PD-L1 expression and the existence of an EGFR mutation was statistically significant after correcting for age, sex and stage of the disease (multivariable ordinal regression; OR = 0,55 (95% CI 0,32; 0,95); $p = 0,031$; SLO < 5%) After correcting for the aforementioned factors the estimated probability that a patient with an EGFR positive finding will have a high expression of PD-L1 was 0,17 (95% CI 0,09; 0,24). A patient with an EGFR negative

finding was estimated to have a 0,27 (0,23; 0,31) probability of having a high expression of PD-L1.

Conclusion: The correlation between the expression of PD-L1 and the existence of the EGFR mutation in non-small cell lung cancer is statistically significant even after adjusting for the presence of confounding factors. The correlation is negative meaning that the EGFR positive patients are 50% less likely to have a high expression of PD-L1.

1. UVOD

Tumori pluća su vodeći uzrok mortaliteta od raka diljem svijeta te zauzimaju vodeće mjesto na ljestvici incidencije tumora u svijetu.(1) Najsignifikantniji okolišni čimbenik za razvitak tumora pluća je pušenje. Od ostalih čimbenika rizika spominju se nezdrava dijeta, pasivna izloženost duhanskom dimu te profesionalna izloženost karcinogenima.(2–4) U najvećem postotku slučaja tumori pluća su karcinomi. Najčešći histološki tipovi karcinoma pluća uključuju nesitnostanične karcinome, u koje se ubrajaju adenokarcinomi pluća te karcinomi pločaste diferencijacije, i karcinomi neuroendokrine diferencijacije; koji se dijele na sitnostanične ili velikostanične karcinome pluća. Nesitnostanični adenokarcinomi i nesitnostanični karcinomi pločaste diferencijacije stanica čine 85% svih tumora pluća. (5) Prognoza pacijenata s karcinomom pluća ovisi o histološkom tipu, TNM klasifikaciji te stadiju bolesti.

TNM klasifikacija karcinoma pluća kategorizira karcinome prema promjeru, fokalnosti tumora, odnosu prema visceralnoj pleuri i okolnim strukturama plućnog parenhima, zatim prema širenju tumora u limfne čvorove te postojanju ili nepostojanju udaljenih metastaza. Temeljem TNM klasifikacije određuje se stadij tumora čiji je cilj svrstavanje pacijenata u grupe s istom prognozom bolesti. Postoje četiri glavna stadija koji se označuju rimskim brojevima od 1-4 (I, II, III, IV). Prvi stadij označava lokalno proširenu bolest, drugi zahvaćene limfne čvorove, treći daljnu proširenost po limfnom sustavu te zahvaćenost sredoprsja, a četvrti udaljenu metastatsku bolest. Viši stadiji imaju lošiju prognozu.(6) Mogućnosti liječenja nesitno-staničnog karcinoma pluća, sastoje se od operativne ekstrakcije tumora, radioterapije, kemoterapije te ciljane biološke terapije. Stadij bolesti uvjetuje koji tip liječenja će biti primijenjen. Sistemska kemoterapija se pokazala učinkovitom u kontroliranju bolesti u ranijim stadijima, a

standardno se daje i u drugom i trećem stadiju. Ako se bolest prepoznata u ranom, lokaliziranom stadiju kirurške intervencije mogu biti učinkovite. Palijativne intervencije poboljšavaju kvalitetu života i produljuju preživljenje kod uznapredovanih stadija, a uključuju kemoterapiju i radioterapiju.(7–9) Adjuvantna sistemska kemoterapija se pri standardiziranim protokolima primjenjuje u drugom i trećem stadiju bolesti nakon kirurške resekcije tumora. Protokoli su standardno bazirani na davanju lijekova na bazi cisplatine. U objedinjenoj analizi pet kliničkih studija vidi se apsolutna dobrobit u preživljenju od 5,4% u vremenu od 5 godina. U drugim studijama se također vidi apsolutna dobrobit u preživljenju kod primjene adjuvantne terapije, osobito kod bolesnika s velikim promjerom primarnog tumora (>4cm), bolesnika u drugom stadiju bolesti, te bolesnika u trećem stadiju nakon što je obavljena R0 resekcija.(10) U četvrtom stadiju bolesti kada su prisutne udaljene metastaze standardno se primjenjuje kombinirana kemoterapija bazirana na platini. Karboplatina ili cisplatina se daje skupa s gemcitabinom, vinorelbinom ili taksanima (paklitakselom ili docetakselom). Zbog neželjenih nuspojava te manjka učinkovitosti nakon 4 do 6 ciklusa dvojnog terapija na bazi platine se tada prekida.(11) Moderni pristup terapiji raznih karcinoma, pa tako i nesitno-staničnog karcinoma pluća uključuje primjenu ciljane terapije te kemoimunoterapije. Osnova ovih modernih metoda je interferencija sa specifičnim regulatornim mehanizmima u stanicama tumora te modulacija imunskog odgovora domaćina na tumor. Specifičan mehanizam djelovanja ovih lijekova smanjuje učestalost neželjenih nuspojava koje predstavljaju znatnu prepreku u primjeni klasične kemoterapije. Ciljana terapija se dijeli po mehanizmu djelovanja na terapiju monoklonalnim protutijelima, terapiju inhibitorima malih molekula te terapiju imunotoksinima.(12)

Mutacije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) su prisutne u 40% populacije azijskog porijekla te u 20% populacije koja nema azijsko porijeklo.(13) Mutacija za EGFR je češće prisutna u žena i nepušača. (14) Mutacija za EGFR je povezana s lošom prognozom i ubrzanim širenjem tumora. (15) Receptor za epidermalni faktor rasta (EGFR) je tip receptora povezanog s tirozin kinazom (RTK) a pripada ErbB/HER porodici receptora.(16) Tirozin kinaza je unutarstanični enzim koji katalizira fosforilaciju tirozinskih ostataka aminokiselina. Ima ulogu u unutarstaničnoj signalizaciji kojima propagira mitozu te inhibira apoptozu stanica.(17) U većini slučajeva mutacija receptora za epidermalni faktor rasta u stanicama nesitno-staničnog karcinoma pluća dolazi do patološke unutarstanične signalizacije i povećane ekspresije receptora na stanicama.(18) Mutacija za EGFR djeluje na metaloproteinaze u izvanstaničnom matriksu čime potiče adheziju, pokretljivost i invazivnost stanica što olakšava metastaziranje tumora. (19–21) Glavna ciljana terapija nesitno-staničnog karcinoma pluća s pozitivitetom mutacije za epidermalni faktor rasta se bazira na inhibiciji tirozin kinaza. Inhibitori tirozin kinaza (TKI) koji se koriste kod mutacije za EGFR se dijele na tri generacije. Prvu generaciju čine erlotinib i gefitinib, drugu afatinib i dacomitinib, a treću osimertinib. (22–29) Preživljenje bez znakova progresije bolesti je poboljšano primjenom tirozin kinaznih inhibitora kod mutacije za EGFR u usporedbi s primjenom kemoterapije bazirane na platini. U velikim kliničkim istraživanjima pozitivan utjecaj na ukupno preživljenje nije dokazan. U njima su se lijekovi primjenjivali kao terapija druge linije nakon što je karcinom progredirao tijekom primjene kemoterapije. Veliki broj tih istraživanja je bio unakrsan. Manjak neželjenih nuspojava i posljedičnih komplikacija je bio prijavljen na terapiji inhibitorima tirozin kinaze. (30,31) Unazad nekoliko godina osimertinib je postao lijek prvog izbora kod EGFR pozitivnog

nesitnostaničnog karcinoma pluća. Primjenom osimertiniba i drugih inhibitora tirozin kinaze u kliničkim istraživanjima se vidjelo da osimertinib produljuje preživljenje bez progresije bolesti značajno bolje od drugih inhibitora. Produljeno preživljenje bez progresije je viđeno u svim grupama bolesnika, uključujući one s metastazama u središnji živčani sustav. (29) Usprkos visokoj stopi odgovora koja je dobivena primjenom inhibitora tirozin kinaze većina pacijenata razvije rezistenciju na terapiju nakon 6 do 12 mjeseci.

Imunoterapija je drugi moderni pristup terapiji nesitno-staničnog karcinoma pluća. Zdravi imunološki sustav ima ulogu u sprječavanju neoplazmi. On prepoznaje i uništava neoplastične stanice u pretkliničkoj fazi. (32) Proces uništavanja stanica raka mora biti precizno reguliran, a ravnoteža između aktivirajućih i inhibitornih mehanizama mora biti postignuta u svrhu ograničavanja destrukcije na maligne stanice uz održavanje funkcije zdravih stanica. (33) Mijenjanjem regulacije imunološkog odgovora stanice raka mogu izbjeći destrukciju i širiti se. Jedan od regulacijskih puteva koji je promijenjen u ovim slučajevima je put programirane stanične smrti (PD-1/PDL-1). Receptor programirane smrti 1 (PD-1) je transmembranski receptor koji se nalazi na membrani stanica raznih zdravih tkiva u ljudskom organizmu. Ligand receptora programirane smrti 1 (PD-L1) se nalazi na limfocitima T. Interakcijom između receptora i liganda programirane stanične smrti 1 se inaktiviraju limfociti T te stanice izbjegavaju apoptozu. Neoplastične stanice mogu imati povećanu ekspresiju PD-1 što smanjuje mogućnost imunološkog sustava da ih prepozna i odvede u apoptozu. Protutijela protiv receptora ili liganda programirane stanične smrti se koriste u imunoterapiji ovakvih karcinoma. Ona sprječavaju interakciju receptora i liganda čime omogućuju apoptozu stanice. (34,35) Primjena imunoterapije koja djeluje na PD-1/PD-

L1 regulatorni put se pokazala učinkovitom u raznim karcinomima, uključujući nesitnostanične karcinome pluća. Određeni pacijenti imaju dugoročnu korist od primjene ove imunoterapije, a dio ih preživi i pet godina nakon prvotne dijagnoze. (36) Najveću korist od PD-1/PDL-1 ciljane terapije imaju pacijenti čija je ekspresija PD-1 veća od 50%. Pembrolizumab se koristi kao standardna monoterapija kod pacijenata s ekspresijom PD-L1 većom od 50%. U pacijenata čija je ekspresija PD-L1 između 1% i 50% pembrolizumab se koristi u kombinaciji s kemoterapijom ili kao monoterapija. (37) U korejskoj studiji iz 2017. godine u koju su bili uključeni sudionici azijskog porijekla viđeno je da postoji povezanost između pozitiveta receptora za epidermalni faktor raste te pozitiviteta liganda programirane stanične smrti 1 u ranim stadijima nesitnostaničnog karcinoma pluća. (38)

2. HIPOTEZA

Izraženost liganda receptora programirane stanične smrti 1 (PD-L1) povezana je s mutacijom receptor epidermalnog čimbenika rasta (EGFR) i nakon prilagodbe za učinak dobi, spola i stadija bolesti.

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći cilj

Istražiti povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR.

3.2. Specifični ciljevi

- 1) Istražiti povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR,
- 2) Istražiti povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti,
- 3) Istražiti moderatorske učinke spola, dobi i stadija bolesti na povezanost PD-L1 i postojanja aktivirajuće mutacije EGFR.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj istraživanja

Za potrebe ovog diplomskog rada provedeno je opservacijsko, unicentrično, ugniježđeno presječno (engl. *nested cross-sectional*) istraživanje. Podatci za presječno istraživanje na kojem je temeljena ova analiza prikupljeni su iz medicinske baze podataka KBC-a Zagreb. Uključeni su bolesnici čiji se biološki materijal analizirao na Zavodu za patologiju KBC Zagreb u periodu od 2018. do 2020. godine u svrhu dobivanja patološke dijagnoze te dodatnih analiza s ciljem određivanja prediktivnih biomarkera i imunološkog statusa.

Istraživanje je provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom Svjetske zdravstvene organizacije prema inačici iz 2013. godine (39).

4.2. Ciljana populacija

Ciljanu populaciju činili su bolesnici oba spola, dobi ≥ 18 godina s novodijagnosticiranim rakom nemalih stanica liječeni u tercijarnoj, specijaliziranoj onkološkoj zdravstvenoj ustanovi u Republici Hrvatskoj. Kriteriji uključivanja bili su dob ≥ 18 godina i patohistološki dijagnosticiran NSSKP. Kriterija neuključivanja nije bilo. Kriteriji isključivanja nisu korišteni s obzirom da se radilo o presječnom istraživanju.

4.2.1. Vrsta i potrebna veličina uzorka

Nije biran uzorak već je uključena cijela populacija bolesnika kojima je tijekom razdoblja uključivanja dijagnosticiran rak pluća nemalih stanica i kojima je tijekom tog razdoblja učinjena patohistološka analiza. Prije početka prikupljanja podataka nije učinjena analiza potrebne veličine uzorka, pa je statistička snaga istraživanja bila nepoznata.

4.3. Ishod

Ishod je bila izraženost PD-L1 podijeljena u tri kategorije: 1) negativna, određena kao 1% PD-L1 pozitivnih stanica u tkivu tumora, 2) niska, određena kao 1-49% te 3) visoka, određena kao 50-100% PD-L1 pozitivnih stanica.

4.4. Nezavisna varijabla

Nezavisna varijabla bila je postojanje aktivirajuće mutacije EGFR.

4.5. Ostale varijable

Ostale varijable koje sam koristila u opisu uzorka bile su spol, dob u godinama te stadij bolesti u trenutku dijagnoze.

4.6. Postupci

Podatci su prikupljeni iz bolničkoj informacijskog sustava i upisani u tablicu u MS Excel. Statistička analiza je provedena uz pomoć kliničkog epidemiologa u izboru pravilnih statističkih testova te pravilnom prikazu rezultata.

4.7. Statistička analiza

Normalnost raspodjele dobi je provjerena Shapiro-Wilkovim testom pa je opisana pomoću medijana i interkvartilnog raspona (IKR), a ne pomoću aritmetičke sredine i standardne devijacije te prikazana histogramom s krivuljom normalne raspodjele.

Hipoteza je provjerena multivarijabilnom ordinalnom logističkom regresijom u kojoj je zavisna varijabla bila izraženosti PD-L1, nezavisna varijabla EGFR status (negativan status je bio referentna kategorija), a kovarijati čiji je učinak kontroliran bili su dob, spol (muškarci su bili referentna kategorija) i klinički stadij bolesti (stadij I je bio referentna kategorija). Prikazan je omjer izgleda (OI) s 95%-tnim intervalom pouzdanosti (IP) i statistička značajnost različitosti OI od 1,00. U uvodu u testiranje hipoteze, prvo je bivarijabilnom ordinalnom logističkom regresijom ispitana statističku značajnost povezanosti izraženosti PD-L1 s EGFR statusom bez prilagodbe za planirane kovarijate. Tri analize moderatorskog učinka dobi, spola i kliničkog stadija na povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom, napravljene su multivarijabilnom ordinalnom logističkom regresijom u kojoj je zavisna varijabla bila izraženosti PD-L1, a nezavisna je bila interakcija EGFR statusa s dobi, u drugoj analizi sa spolom, u trećoj s kliničkim stadijem. Dodatno je povezanost kliničkog stadija s EGFR statusom

provjerena bivarijabilnom, binarnom logističkom regresijom. Statistička značajnost uvijek dvosmjernih testova određena je na $p < 0,05$. Svi intervali pouzdanosti (IP) dani su na 95%-tnoj razini. Korekcija za višestruka testiranja provedena je pomoću Benjamini-Hochbergove metode gdje je granica prihvatljive stope lažnih otkrića (SLO) određena na $< 5\%$. Statistička značajnost Shapiro-Wilk testa nije računana u statističke značajnosti koje su korigirane za višestruka testiranja. Statistička analiza je učinjena pomoću besplatnog statističkog programa JASP, verzija 0.16.1., JASP Team (2022), Sveučilište u Amsterdamu.

5. REZULTATI

Ukupno je tijekom dvije godine uključeno 529 bolesnika. Kod 3 (0,6%) bolesnika podatak o godini rođenja bio je pogrešno upisan, pa su isključeni iz analize. Troje isključenih bili su muškarci s negativnim EGFR statusom; jedan je imao tumor stadija II, a dvoje tumor stadija III. Jedan je imao negativnu izraženost PD-L1 (< 1% stanica), a dvoje nisku (1-49% stanica). Kod jedne bolesnice, stare 71 godinu, nedostajao je podatak o izraženosti PD-L1. Ona je pri prvoj dijagnozi imala metastatsku bolest te negativan EGFR status te je također isključena iz analize. U završnom uzorku koji je korišten u ovoj analizi, preostalo je 525 bolesnika.

5.1. Karakteristike sudionika

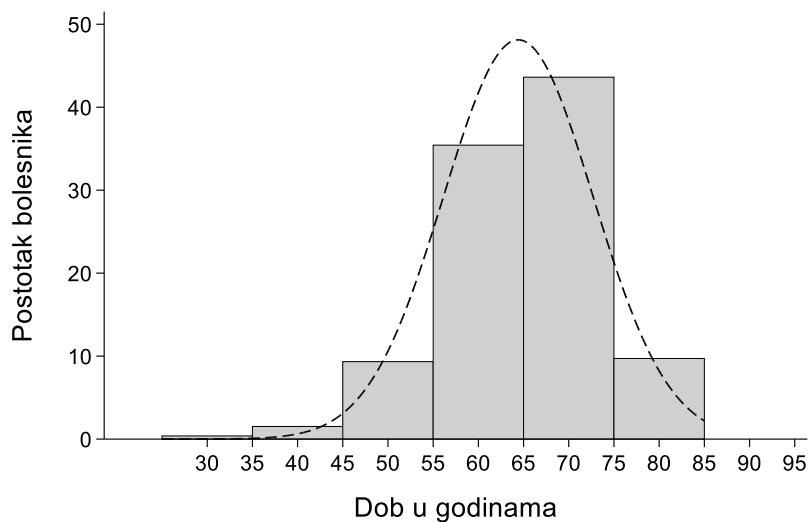
Shapiro-Wilk test ukazao je na statistički značajno odstupanje raspodjele dobi od teorijski očekivane normalne raspodjele (Shapiro-Wilk test, $n = 525$; $V = 7,86$; $z = 4,96$; $p < 0,001$) (Slika 1). Medijan (IKR) dobi sudionika iznosio je 65 (60-70) godina, ukupni raspon dobi bio je od 31 do 84 godine, a bolesnika dobi ≥ 75 godina bilo je 51 (9,7%) (Tablica 1). Žena je u cijelom uzorku bilo 228/525 (43,5%), a muškarci i žene bili su usporedive dobi. Medijan (IKR) dobi u žena iznosio je 65 (60-70) godina, a u muškaraca 65 (59-70) godina. Pri prvoj dijagnozi 188/525 (35,8%) bolesnika imalo je metastatsku bolest proširenu van pluća, na udaljene organe. Pozitivan EGFR status zabilježen je kod 64 (12,2%) bolesnika, a visoka izraženost PD-L1 kod 140 (26,7%).

Tablica 1. Karakteristike sudionika (n = 525)

	n	(%)
Dob (godine), medijan (IKR)	65	(60-70)
Kategorizirana dob (godine)		
< 55	59	(11,2)
55-64	186	(35,4)
65-74	229	(43,6)
≥ 75	51	(9,7)
Spol		
muškarci	297	(56,6)
žene	228	(43,5)
Stadij		
I	161	(30,7)
II	74	(14,1)
III	102	(19,4)
IV	188	(35,8)
EGFR status		
negativan	461	(87,8)
pozitivan	64	(12,2)
Izraženost PD-L1		
negativna (< 1%)	265	(50,5)
niska (1-49%)	120	(22,9)
visoka (≥ 50%)	140	(26,7)

Podatci su prikazani kao broj (postotak) sudionika ako nije drukčije navedeno

Kratice: IKR, interkvartilni raspon



Slika 1. Raspodjela dobi; isprekidana krivulja predstavlja krivulju normalne raspodjele (n = 525)

5.2. Povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR

Utvrđena je statistički značajna povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR (Bivarijabilna ordinalna regresija; OI = 0,50 (95% IP 0,29; 0,85); p = 0,011; SLO < 5%) (Tablica 2). Bolesnici s pozitivnim EGFR statusom imali su 50% manje izgleda za višu izraženost PD-L1 u odnosu na bolesnike s negativnim EGFR statusom. Procijenjena vjerojatnost da će bolesnik s pozitivnim EGFR statusom imati negativnu izraženost PD-L1 iznosila je 0,65 (95% IP 0,54; 0,77), da će imati nisku izraženost PD-L1, 0,18 (95% IP 0,13; 0,24) te da će imati visoku izraženost PD-L1, 0,16 (95% IP 0,09; 0,23) za razliku od bolesnika s negativnim EGFR statusom kod kojih je procijenjena vjerojatnost za visoki PD-L1 iznosila 0,28 (0,24; 0,32).

Tablica 2. Bivarijabilna analiza povezanosti izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR (n = 525)

	Izraženost PD-L1			OI	(95% IP)	p
	Negativna (< 1%) (n = 265)	Niska (1-49%) (n = 120)	Visoka (≥ 50%) (n = 140)			
EGFR status						
negativan	223 (48,4)	109 (23,6)	129 (28,0)	1,00		
pozitivan	42 (65,6)	11 (17,2)	11 (17,2)	0,50	(0,29; 0,85)	0,011*

Podatci su prikazani kao broj (postotak) bolesnika ako nije drukčije navedeno

Kratice: PD-L1, Ligand receptora programirane stanične smrti 1; EGFR, Receptor epidermalnog čimbenika rasta; OI, omjer izgleda; IP, interval pouzdanosti; p, statistička značajnost razlike omjera izgleda od 1,00

* SLO < 5%

5.3. Povezanost izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti

Povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom bila je statistički značajna i nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti (Multivarijabilna ordinalna regresija; OI = 0,55 (95% IP 0,32; 0,95); p = 0,031; SLO < 5%) (Tablica 3). Nakon prilagodbe za spomenute čimbenike, procijenjena vjerojatnost da će bolesnik s pozitivnim EGFR statusom imati visoku izraženost PD-L1 iznosila je 0,17 (95% IP 0,09; 0,24), za razliku od bolesnika s negativnim EGFR statusom kod kojih je procijenjena vjerojatnost za visoki PD-L1 iznosila 0,27 (0,23; 0,31).

Tablica 3. Multivarijabilna analiza povezanosti izraženosti PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR nakon prilagodbe za dob, spol i stadij bolesti (n = 525)

	Izraženost PD-L1			OI	(95% IP)	p
	Negativna (< 1%) (n = 265)	Niska (1-49%) (n = 120)	Visoka (≥ 50%) (n = 140)			
EGFR status						
negativan	223 (48,4)	109 (23,6)	129 (28,0)	1,00		
pozitivan	42 (65,6)	11 (17,2)	11 (17,2)	0,55	(0,32; 0,95)	0,031*
Dob (godine)	†			0,85	(0,70; 1,04)	0,125
Spol						
muškarci	150 (50,5)	62 (20,9)	85 (28,6)	1,00		
žene	115 (50,4)	58 (25,4)	55 (24,1)	1,03	(0,74; 1,45)	0,851
Stadij						
I	100 (62,1)	31 (19,3)	30 (18,6)	1,00		
II	42 (56,8)	14 (18,9)	18 (24,3)	1,23	(0,71; 2,13)	0,459
III	48 (47,1)	24 (23,5)	30 (29,4)	1,79	(1,10; 2,90)	0,018*
IV	75 (39,9)	51 (27,1)	62 (33,0)	2,21	(1,47; 3,34)	< 0,001*

Podatci su prikazani kao broj (postotak) bolesnika ako nije drukčije navedeno

Kratice: PD-L1, Ligand receptora programirane stanične smrti 1; EGFR, Receptor epidermalnog čimbenika rasta; OI, omjer izgleda; IP, interval pouzdanosti; p, statistička značajnost razlike omjera izgleda od 1,00

* SLO < 5%

† Dob je analizirana kao originalna, numerička varijabla, pa je nemoguće prikazati postotke izraženosti PD-L1

5.4. Moderatorski učinci dobi, spola i stadija bolesti na povezanost izraženosti

PD-L1 s postojanjem aktivirajuće mutacije EGFR

5.4.1. Dob

Nije utvrđen statistički značajan moderatorski učinak dobi na povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom (Multivarijabilna ordinalna logistička regresija; (EGFR x dob), OI = 0,70; 95% IP 0,36; 1,36; p = 0,293; SLO > 5%). Na temelju ovog istraživanja i na razini pouzdanosti od 95%, ne može se tvrditi da se povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom razlikuje s obzirom na dob bolesnika.

5.4.2. Spol

Nije utvrđen ni statistički značajan moderatorski učinak spola na povezanosti izraženost PD-L1 s EGFR statusom (Multivarijabilna ordinalna logistička regresija; (EGFR x spol), OI = 1,20; 95% IP 0,37; 3,90; p = 0,758; SLO > 5%). Na temelju ovog istraživanja i na razini pouzdanosti od 95%, ne može se tvrditi da je povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom različita između žena i muškaraca.

5.4.3. Stadij

Iako je bivarijabilna povezanost kliničkog stadija s izraženošću PD-L1 bila statistički značajna, u stadiju IV i visoka (Bivarijabilna ordinalna regresija, stadij IV; OI = 2,34; 95% IP 1,56; 3,52; $p < 0,001$; SLO < 5%) (Tablica 4), nije utvrđen statistički značajan moderatorski učinak stadija na povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom (Multivarijabilna ordinalna logistička regresija; (EGFR x stadij), OI (stadij II) = 0,93; 95% IP 0,14; 6,33; $p = 0,943$; SLO > 5%; OI (stadij III) = 2,22; 95% IP 0,46; 10,71; $p = 0,319$; SLO > 5%; OI (stadij IV) = 1,33; 95% IP 0,36; 4,93; $p = 0,673$; SLO > 5%). Na temelju ovog istraživanja i na razini pouzdanosti od 95%, ne može se tvrditi da se povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom razlikuje s obzirom na klinički stadij bolesti. Za izostanak tog učinka možda je dijelom odgovorno nepostojanje povezanosti između kliničkog stadija i EGFR statusa (Binarna logistička regresija; OI (stadij II) = 0,75; 95% IP 0,33; 1,71; $p = 0,497$; SLO > 5%; OI (stadij III) = 0,53; 95% IP 0,24; 1,18; $p = 0,119$; SLO > 5%; OI (stadij IV) = 0,68; 95% IP 0,37; 1,28; $p = 0,232$; SLO > 5%)

Tablica 4. Bivarijabilna analiza povezanosti izraženosti PD-L1 s kliničkim stadijem bolesti (n = 525)

Stadij	Izraženost PD-L1			OI	(95% IP)	p
	Negativna (< 1%) (n = 265)	Niska (1-49%) (n = 120)	Visoka (≥ 50%) (n = 140)			
I	100 (62,1)	31 (19,3)	30 (18,6)	1,00		
II	42 (56,8)	14 (18,9)	18 (24,3)	1,30	(0,75; 2,23)	0,349
III	48 (47,1)	24 (23,5)	30 (29,4)	1,85	(1,14; 2,98)	0,012*
IV	75 (39,9)	51 (27,1)	62 (33,0)	2,34	(1,56; 3,52)	< 0,001*

Podatci su prikazani kao broj (postotak) bolesnika ako nije drukčije navedeno

Kratice: PD-L1, Ligand receptora programirane stanične smrti 1; EGFR, Receptor epidermalnog čimbenika rasta; OI, omjer izgleda; IP, interval pouzdanosti; p, statistička značajnost razlike omjera izgleda od 1,00;

* SLO < 5%

6. RASPRAVA

6.1. Sažetak glavnih rezultata

Ovim istraživanjem potvrđena je statistički značajna povezanost izraženosti PD-L1 s EGFR statusom i nakon prilagodbe za dob, spol i klinički stadij bolesti. Bolesnici s pozitivnim EGFR imali su manje izgleda za veću izraženosti PD-L1. Dakle, povezanost izraženosti PD-L1 i EGFR statusa je inverzna.

6.2. Usporedba s dosadašnjim ispitivanjima

Rezultati dosadašnjih istraživanja korelacije između PD-L1 statusa i EGFR statusa su raznoliki, ponekad proturječni i obuhvaćaju širok spektar sudionika koji se razlikuju po etničkoj pripadnosti. Globalna, multicentrična studija iz 2019. godine je pokazala prevalenciju pozitiviteta za PD-L1 među različitim etničkim regijama. Prevalencija niske izraženosti PD-L1 (1-49%) je bila 53% u Aziji, 52% u Europi i 47% u Sjevernoj i Južnoj Americi. Prevalencija visoke izraženosti PD-L1 ($\geq 50\%$) je bila 22% u Europi i Aziji te 21% u Sjevernoj i Južnoj Americi. Sudionici bez mutacije za EGFR ili ALK translokacije su imali ponešto povećanu ekspresiju PD-L1. (40) U našoj studiji prevalencija niske izraženosti PD-L1 (1-49%) je 22,9 % a prevalencija visoke izraženosti PD-L1 ($\geq 50\%$) je 26,7%. Istraživanje napravljeno u Kini, 2016. godine je pokazalo veću pojavnost pozitiviteta mutacije za EGFR kod bolesnika s niskom ekspresijom PD-L1. (41) Rezultati našeg istraživanja se slažu s prethodno navedenim studijama budući da je dobivena negativna korelacija između mutacije za EGFR i

izraženosti PD-L1 što znači da sudionici s mutacijom za EGFR imaju manju ekspresiju PD-L1, to jest da sudionici bez mutacije za EGFR imaju ponešto povećanu ekspresiju PD-L1. Sudionici našeg istraživanja su isključivo bjelačkog, istočnoeuropskog etničkog podrijetla budući da ono čini većinu državljana Republike Hrvatske. Meta-analiza iz 2016.godine je pokazala podatke o prevalenciji mutiranog EGFR u populaciji azijskog i europskog podrijetla. Prevalencija mutiranog EGFR u azijskoj populaciji je 32,3% a u europskoj 14,1%.⁽¹³⁾ U našem istraživanju je EGFR mutiran u 12,2% sudionika što otprilike odgovara prevalenciji mutacije u europskoj populaciji. Bolesnici s mutiranim EGFR i visokom ekspresijom PD-L1 imaju bolje ukupno preživljenje nakon primjene terapije inhibitorima tirozin kinaze u usporedbi s bolesnicima koji imaju mutiran EGFR i negativnu ekspresiju PD-L1. ⁽⁴²⁾ Problem terapije inhibitorima tirozin kinaze je nastajanje stečene rezistencije kod nekih pacijenata. Smatra se da aktivirajuća mutacija za EGFR promovira ekspresiju PD-L1 preko aktivacije signalnog puta nuklearnog faktora κ B. Ovaj signalni put bi mogao biti podloga za nastajanje stečene rezistencije. Kombinacija imunološke terapije s terapijom inhibitorima tirozin kinaze bi mogla predstavljati novu mogućnost liječenja pacijenata s EGFR pozitivnim nesitnostaničnim karcinomom pluća. ⁽⁴³⁾ Određene genetske mutacije receptora za epidermalni čimbenik rasta su povezane s manjom ekspresijom PD-L1. Ekspresija PD-L1 je manja kod pacijenata s delecijom egzona 19 i L858R mutacijom na egzonu 21 u usporedbi s ostalim mutacijama za EGFR. ⁽³⁸⁾ Ovo istraživanje nije gledalo specifičnosti genetskih mutacija za EGFR niti odgovor pacijenata na terapiju inhibitorima tirozin kinaze, već se bavilo istraživanjem odnosa između ekspresije PD-L1 i mutacije za EGFR što može dati uvid u potrebu provedbe daljnjih istraživanja koja bi mogla identificirati populaciju pacijenata s visokom ekspresijom PD-L1 i mutacijom za EGFR kojima bi kombinirana

terapija mogla biti od koristi. U prospektivnoj konsekutivnoj studiji iz Danske medijan dobi je 71,6 godina, u retrospektivnoj studiji iz Kine je 57,09 godina, a u studiji iz Koreje on je 62 godine dok je ukupni dobni raspon od 35 do 84 godine. (38,42,44) Medijan dobi u našoj studiji je 65 godina a ukupni dobni raspon je 31 do 84 godine. On se slaže s ostalim studijama koje se bave ovom tematikom i oslikava činjenicu da je nesitnostanični karcinom pluća bolest starije populacije. U studiji koja je gledala povezanost EGFR i PD-L1 statusa u Kini uzeto je 170 EGFR pozitivnih sudionika kojima je naknadno određen PD-L1 status. Od ukupnog uzorka 94, 7% bolesnika je bilo u trećem ili četvrtom stadiju bolesti pri dijagnozi. (42) Druga studija koja je gledala korelaciju između ekspresije PD-L1 i postojanja mutacije za EGFR i KRAS je obuhvatila 100 bolesnika od kojih je 60 bilo pozitivno za mutaciju za EGFR. (41) Studija koja je gledala povezanost ekspresije PD-L1 sa specifičnim genetskim mutacijama za EGFR je obuhvatila 323 bolesnika s mutiranim EGFR. Od njih je 49% bilo dijagnosticirano u stadiju IA, 15% u stadiju IB, 13% u stadiju II, 20% u stadiju III, a 5% u stadiju IV. (38) U naše istraživanje je bilo uključeno 525 pacijenata s dijagnozom nesitnostaničnog karcinoma pluća od kojih je 64 bilo pozitivno za mutaciju za EGFR. U prvom stadiju je bilo dijagnosticirano 30,7 % pacijenata, u drugom 14, 1%, u trećem 19,4% a u četvrtom 35,8%. Malen broj sudionika u studiji se može pripisati činjenici da je broj stanovnika Republike Hrvatske malen u usporedbi sa zemljama u kojima je rađeno mnogo ovakvih istraživanja kao što je to Kina. Malen broj pacijenata s mutacijom za EGFR se može pripisati i činjenici da je Hrvatsko stanovništvo Europskog podrijetla pa kao takvo ima nižu prevalenciju mutacije za EGFR u usporedbi s azijskim stanovništvom.

6.3. Ograničenja istraživanja

Prvo ograničenje istraživanja bilo je u tome što nam je bio dostupan samo već kategorizirani ishod. Nisu nam bile dostupne izvorne vrijednosti mjerenja, već samo mjerenje izraženosti PD-L1 podijeljeno u tri kategorije. Osim što je takvim grupiranjem smanjenja statistička snaga istraživanja, odnosno povećan rizik od lažno negativnih nalaza na datoj veličini uzorka, time su smanjena i preciznost analize i mogućnost uočavanja eventualnih nelinearnih povezanosti nezavisne varijable i moderatora s izraženošću PD-L1 receptora. Ishod je već bio grupiran zato što smo koristili rutinski prikupljene podatke. Nemoguće je pretpostaviti je li taj mogući izvor sustavne pogreške djelovao u prilog i protiv *null* hipoteze te koliki je imao učinak. Rješenje ovog ograničenja istraživanja moguće je jedino u novom istraživanju u kojem bi ishod bio mjeren na originalnoj, omjernoj, numeričkoj ljestvici. Slijedeće ograničenje istraživanja jest u tome što je dio podataka prikupljen prije, a dio nakon početka pandemije COVID-19 u veljači 2020. godine. Nije nemoguće da je tijekom pandemije došlo do kašnjenja prvih dijagnoza što je za posljedicu moglo imati prosječno teži stadij bolesti pri prvoj dijagnozi. Nije za očekivati da je ta promjena, ako se jest dogodila, imala utjecaja na povezanost izraženosti PD-L1 i EGFR, no ne možemo posve isključiti takvu mogućnost. Rješenje ovog problema bilo bi u dodatnoj stratificiranoj analizi odvojeno bolesnika koji su uključeni prije i onih koji su uključeni nakon početka pandemije. Međutim, nisu mi dostupni datumi uključivanja pojedinih bolesnika. Slijedeće ograničenje istraživanja uzrokovano je time što su podatci prikupljeni samo u jednoj ustanovi. Nemam razloga sumnjati da je povezanost PD-L1 i EGFR različita u drugim regijama ili u bolesnika liječenih u drukčijoj vrsti ustanove, ali tu mogućnost ne mogu

isključiti. Ovo ograničenje moglo je djelovati samo na generabilnost (vanjsku valjanost) istraživanja, ali ne i na njegovu unutarnju valjanost. Još jedno ograničenje istraživanja je relativno mali uzorak sudionika s mutacijom za EGFR što je posljedica malog uzorka populacije pacijenata zbog oskudne populacije Republike Hrvatske te manje prevalencije mutacije u populaciji Europskog podrijetla. Jedino rješenje je, naravno, u provođenju multicentrične studije u kojoj bi bolesnici bili uključivani u većem broju mjesta i u različitim vrstama ustanova budući da bi to proširilo obuhvat sudionika i povećalo vanjsku valjanost istraživanja.

7. ZAKLJUČCI

Izraženost PD-L1 u nesitnostaničnom karcinomu pluća je statistički značajno povezana s EGFR statusom i nakon prilagodbe za dob, spol i stadij. Povezanost je inverzna što znači da sudionici s mutacijom za EGFR imaju 50% manje šanse da imaju visoku izraženost PD-L1. Sudionici bez mutacije za EGFR imaju veće šanse za visoku izraženost PD-L1. Dob i spol sudionika te stadij bolesti nemaju moderatorski učinak na povezanost između ekspresije PD-L1 statusa i mutacije za EGFR.

Proučavanje odnosa između izraženosti ova dva tumorska markera može voditi k prepoznavanju određene populacije bolesnika koja može imati koristi od specifične kombinirane terapije koja se sastoji od imunološke terapije te terapije inhibitorima tirozin kinaze.

8. ZAHVALE

Zahvaljujem majci Patriciji Delimar i ocu Domagoju Delimaru te ostatku obitelji na razumijevanju i potpori tijekom studija medicine. Zahvaljujem prijateljima i kolegama jer je uz dobro društvo sve lakše. Zahvaljujem svojoj mentorici Lovorki Batelji-Vuletić na vodstvu, savjetovanju i podršci tijekom prikupljanja podataka i pisanja diplomskog rada. Zahvaljujem statističaru Žarku Bajiću na obradi podataka bez koje ovaj rad ne bi bio moguć.

9. LITERATURA

1. Common Cancer Sites - Cancer Stat Facts [Internet]. SEER. [citirano 11. veljača 2022.]. Dostupno na: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/common.html>
2. Vineis P, Airoidi L, Veglia F, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, i ostali. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. *BMJ*. 05. veljača 2005.;330(7486):277.
3. Tardon A, Lee WJ, Delgado-Rodriguez M, Dosemeci M, Albanes D, Hoover R, i ostali. Leisure-time physical activity and lung cancer: a meta-analysis. *Cancer Causes Control CCC* [Internet]. svibanj 2005. [citirano 11. veljača 2022.];16(4):389–97. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255936/>
4. Boffetta P. Epidemiology of environmental and occupational cancer. *Oncogene*. 23. kolovoz 2004.;23(38):6392–403.
5. Domvri K, Zarogoulidis P, Darwiche K, Browning RF, Li Q, Turner JF, i ostali. Molecular Targeted Drugs and Biomarkers in NSCLC, the Evolving Role of Individualized Therapy. *J Cancer* [Internet]. 23. studeni 2013. [citirano 06. veljača 2022.];4(9):736–54. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842443/>
6. Tsim S, O'Dowd CA, Milroy R, Davidson S. Staging of non-small cell lung cancer (NSCLC): a review. *Respir Med*. prosinac 2010.;104(12):1767–74.
7. Dillman RO, Seagren SL, Propert KJ, Guerra J, Eaton WL, Perry MC, i ostali. A randomized trial of induction chemotherapy plus high-dose radiation versus radiation alone in stage III non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 04. listopad 1990.;323(14):940–5.
8. Arriagada R, Bergman B, Dunant A, Le Chevalier T, Pignon J-P, Vansteenkiste J, i ostali. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 22. siječanj 2004.;350(4):351–60.
9. Winton T, Livingston R, Johnson D, Rigas J, Johnston M, Butts C, i ostali. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 23. lipanj 2005.;352(25):2589–97.
10. Pignon J-P, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard J-Y, Shepherd FA, Stephens RJ, i ostali. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20. srpanj 2008.;26(21):3552–9.

11. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* kolovoz 2019.;94(8):1623–40.
12. Baudino TA. Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment. *Curr Drug Discov Technol.* 2015.;12(1):3–20.
13. Zhang Y-L, Yuan J-Q, Wang K-F, Fu X-H, Han X-R, Threapleton D, i ostali. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 29. studeni 2016.;7(48):78985–93.
14. Zhou YC, Lin YP, Li Q, Ma LY, Liu X, Wang XX, i ostali. [Analysis of EGFR mutation and clinical features of lung cancer in Yunnan]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 23. rujan 2020.;42(9):729–34.
15. Jänne PA, Engelman JA, Johnson BE. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Non–Small-Cell Lung Cancer: Implications for Treatment and Tumor Biology. *J Clin Oncol* [Internet]. 10. svibanj 2005. [citirano 23. veljača 2022.];23(14):3227–34. Dostupno na: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2005.09.985>
16. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol.* veljača 2001.;2(2):127–37.
17. Paul MK, Mukhopadhyay AK. Tyrosine kinase – Role and significance in Cancer. *Int J Med Sci* [Internet]. 01. lipanj 2004. [citirano 23. veljača 2022.];1(2):101–15. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1074718/>
18. Ciardiello F, Tortora G. EGFR Antagonists in Cancer Treatment. *N Engl J Med* [Internet]. 13. ožujak 2008. [citirano 23. veljača 2022.];358(11):1160–74. Dostupno na: <https://doi.org/10.1056/NEJMra0707704>
19. Hazan RB, Norton L. The epidermal growth factor receptor modulates the interaction of E-cadherin with the actin cytoskeleton. *J Biol Chem.* 10. travanj 1998.;273(15):9078–84.
20. Herbst RS, Bunn PA. Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 01. prosinac 2003.;9(16 Pt 1):5813–24.
21. Ellerbroek SM, Halbleib JM, Benavidez M, Warmka JK, Wattenberg EV, Stack MS, i ostali. Phosphatidylinositol 3-kinase activity in epidermal growth factor-stimulated matrix metalloproteinase-9 production and cell surface association. *Cancer Res.* 01. ožujak 2001.;61(5):1855–61.
22. Zhou C, Wu Y-L, Chen G, Feng J, Liu X-Q, Wang C, i ostali. 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.* kolovoz 2011.;12(8):735–42.
23. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, i ostali. 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.* ožujak 2012.;13(3):239–46.
 24. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, i ostali. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 24. lipanj 2010.;362(25):2380–8.
 25. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, i ostali. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* veljača 2010.;11(2):121–8.
 26. Sequist LV, Yang JC-H, Yamamoto N, O’Byrne K, Hirsh V, Mok T, i ostali. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20. rujan 2013.;31(27):3327–34.
 27. Wu Y-L, Zhou C, Hu C-P, Feng J, Lu S, Huang Y, i ostali. 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.* veljača 2014.;15(2):213–22.
 28. Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, i ostali. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med.* 16. veljača 2017.;376(7):629–40.
 29. Soria J-C, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, i ostali. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 11. siječanj 2018.;378(2):113–25.
 30. Lee CK, Brown C, Gralla RJ, Hirsh V, Thongprasert S, Tsai C-M, i ostali. Impact of EGFR inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and overall survival: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 01. svibanj 2013.;105(9):595–605.
 31. Lee CK, Wu Y-L, Ding PN, Lord SJ, Inoue A, Zhou C, i ostali. Impact of Specific Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations and Clinical Characteristics on Outcomes After Treatment With EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors Versus Chemotherapy in EGFR-Mutant Lung Cancer: A Meta-Analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10. lipanj 2015.;33(17):1958–65.
 32. Kroemer G, Galluzzi L, Kepp O, Zitvogel L. Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annu Rev Immunol.* 2013.;31:51–72.

33. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*. 17. svibanj 2001.;411(6835):342–8.
34. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, i ostali. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. kolovoz 2002.;8(8):793–800.
35. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 22. ožujak 2012.;12(4):252–64.
36. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanzet M, Vansteenkiste J, Mazieres J, i ostali. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 30. travanj 2016.;387(10030):1837–46.
37. Ferrara R, Imbimbo M, Malouf R, Paget-Bailly S, Calais F, Marchal C, i ostali. Single or combined immune checkpoint inhibitors compared to first-line platinum-based chemotherapy with or without bevacizumab for people with advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 14. prosinac 2020.;12:CD013257.
38. Cho JH, Zhou W, Choi Y-L, Sun J-M, Choi H, Kim T-E, i ostali. Retrospective Molecular Epidemiology Study of PD-L1 Expression in Patients with EGFR-Mutant Non-small Cell Lung Cancer. *Cancer Res Treat Off J Korean Cancer Assoc [Internet]*. siječanj 2018. [citirano 06. veljača 2022.];50(1):95–102. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5784638/>
39. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 27. studeni 2013.;310(20):2191–4.
40. Dietel M, Savelov N, Salanova R, Micke P, Bigras G, Hida T, i ostali. Real-world prevalence of programmed death ligand 1 expression in locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: The global, multicenter EXPRESS study. *Lung Cancer Amst Neth*. kolovoz 2019.;134:174–9.
41. Ji M, Liu Y, Li Q, Li X, Ning Z, Zhao W, i ostali. PD-1/PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer and its correlation with EGFR/KRAS mutations. *Cancer Biol Ther [Internet]*. 08. ožujak 2016. [citirano 09. travanj 2022.];17(4):407–13. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4910919/>
42. Tang Y, Fang W, Zhang Y, Hong S, Kang S, Yan Y, i ostali. The association between PD-L1 and EGFR status and the prognostic value of PD-L1 in advanced non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. *Oncotarget [Internet]*. 29. ožujak 2015. [citirano 09. travanj 2022.];6(16):14209–19. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4546461/>

43. Lin K, Cheng J, Yang T, Li Y, Zhu B. EGFR-TKI down-regulates PD-L1 in EGFR mutant NSCLC through inhibiting NF- κ B. *Biochem Biophys Res Commun.* 17. srpanj 2015.;463(1–2):95–101.
44. Skov BG, Rørvig SB, Jensen THL, Skov T. The prevalence of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer in an unselected, consecutive population. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* siječanj 2020.;33(1):109–17.

10. ŽIVOTOPIS

Petra Delimar se rodila 08.07.1997 u Zagrebu. 2012 godine upisuje dvojezični englesko-hrvatski program 16.gimnazije koji završava 2016.godine s položenim CAE (Cambridge Advanced English) certifikatom na razini C2. Iste godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu koji završava 2022. godine. Tijekom studija radi kao demonstrator na katedri za anatomiju, kao stručni suradnik edukacijske web-platforme Slader te je član vodstva studentske sekcije za ortopediju i traumatologiju.