

Personalizovaná medicína a biomarkery v onkologii

Vladimíra Koudeláková*, Magdalena Kneblová*, Marián Hajdúch

Laboratoř experimentální medicíny, Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého

*Autoři se podíleli na práci stejným dílem.

Článek popisuje možnosti současné personalizované medicíny v onkologii, a to konkrétně prediktivní význam biomarkerů pro účinnost cílené terapie. Autoři se věnují rutinně používaným biomarkerům stejně jako testovaným biomarkerům, jejichž verifikace a následné zavedení do klinické praxe je v současné době předmětem intenzivního výzkumu.

Klíčová slova: biomarker, personalizovaná medicína, cílená léčba, onkologie.

Personalized medicine and biomarkers in oncology

This paper describes current options of personalized medicine in oncology, particularly the importance of predictive biomarkers for targeted treatment response. The authors discuss the routinely used biomarkers as well as tested biomarkers. Verification and subsequent usage of these biomarkers in clinical practice is currently the subject of intensive research.

Key words: biomarker, personalized medicine, targeted therapy, oncology.

Úvod

Současná onkologie zaznamenala v posledních několika letech velký posun v oblasti studia diagnostických, prognostických a prediktivních biomarkerů. Řada výsledků intenzivního výzkumu v této oblasti je v současné době implementována do diagnosticko-léčebné praxe. Do popředí zájmu se dostávají především protinádorová léčiva, specifická pro konkrétní typ nádoru, a biomarkery, které s dostatečnou pravděpodobností definují skupinu pacientů, kteří z této léčby budou profitovat. Dochází tak k personalizaci onkologické léčby na základě genetických a/nebo proteomických charakteristik samotného nádoru.

Charakteristika nádorového biomarkeru je velmi obtížná, jedná se o heterogenní skupinu měřitelných znaků, kterými lze spolehlivě odlišit nádorovou buňku od jejího nenádorového progenitoru. Nádorové biomarkery jsou v současné době používány v oblasti diagnostiky, prognózování nemoci, predikci léčebné odpovědi a monitorování průběhu onemocnění (1). Vzhledem k rozsáhlosti této oblasti je následující text věnován pouze prediktivním biomarkerům.

Biomarkery, používané pro predikci účinnosti terapie

K prvním biomarkerům, které byly rutinně zavedeny pro individualizaci léčby, patří vyšetření exprese estrogenových/progesteronových receptorů. Nadměrná exprese těchto receptorů se vyskytuje až u 70 % pacientů s karcinomem prsu a je prediktorem dobré léčebné odpovědi na hormonální terapii (2). Velmi významný byl i objev fúzního

proteinu BCR-ABL, který znamenal zvrat v léčbě chronické myeloidní leukemie (CML). Přítomnost BCR-ABL fúze, která se vyskytuje u 95 % pacientů s CML, je prediktorem dobré léčebné odpovědi na multikinázový inhibitor imatinib (nilotinib, dasatinib). Léčba imatinibem je rovněž velmi účinná u gastrointestinálních nádorů (GIST), kde blokuje kinázovou aktivitu mutovaného onkogenu c-KIT (3, 4). V posledních několika letech byly objeveny další prediktivní biomarkery, které našly široké uplatnění v klinické praxi (tabulka 1).

HER2

HER2 kóduje transmembránový protein p185, patří do rodiny receptorů pro epidermální růstový faktor (EGFR/ErbB). Za fyziologických podmínek reguluje buněčný růst a diferenciaci. Amplifikace způsobující nadměrnou expresi proteinu HER2 bývá nalezena přibližně u 15–20 % pacientů s karcinomem prsu, nejčastěji u duktálního typu s negativitou hormonálních receptorů. HER2 pozitivní nádory prsu jsou agresivnější, často metastazují do CNS, jsou méně citlivé na standardní chemoterapii. HER2 amplifikace/nadměrná exprese je nezávislým negativním prognostickým faktorem (5). Pacientům s HER2 pozitivním karcinomem prsu lze indikovat humanizovanou monoklonální protilátku IgG1 trastuzumab (Herceptin), a to jak v paliativním, tak neo-/adjuvantním režimu. Trastuzumab blokuje receptorem aktivovanou signalizaci a navozuje protinádorovou imunitní odpověď (ADCC). Trastuzumab je podáván intravenózně v monoterapii či kombinaci s taxany, inhibitory aromatázy, vinorelbinem či kapecitabinem

(6, 7). Při progresi onemocnění lze HER2 blokovat lapatinibem (Tyverb), duálním inhibitorem EGFR a HER2, v kombinaci s kapecitabinem (8). Velmi slibně vypadají i výsledky studií, kombinující trastuzumab s lapatinibem, které prokázaly synergní antiproliferační efekt této kombinace, a to i v neo-adjuvantním podání (9, 10).

Trastuzumab je v kombinaci s cisplatinou a kapecitabinem nebo 5-fluorouracilem (5-FU) indikován pacientům s metastatickým HER2 pozitivním adenokarcinomem žaludku. HER2 nadměrná exprese/amplifikace se u nádorů žaludku vyskytuje přibližně u 20 % případů a je asociována s intestinálním typem nádoru (11, 12).

EGFR

EGFR kóduje transmembránový tyrosinkinázový receptor s obdobnou funkcí jako HER2. U karcinomu plic byly popsány aktivační mutace EGFR genu, jejichž výskyt je přibližně 30 % u Asiátů a 15 % v kavkazské populaci. Mutace se vyskytují téměř výhradně u plicního adenokarcinomu. Nejčastější mutace, delece v exonu 19 (báze 746–753) a substituce argininu za leucin (L858R) v exonu 21 bývají nalezeny u 90 % případů (13). U pacientů s aktivační mutací EGFR byla jednoznačně prokázána účinnost nízkomolekulárních ATP-kompetitivních inhibitorů, gefitinibu (Iressa), resp. erlotinibu (Tarceva), které lze indikovat pacientům s pokročilým plicním karcinomem a prokázanou aktivační mutací genu EGFR v první, resp. druhé a třetí linii léčby. Prokázána je rovněž lepší odpověď na erlotinib/gefitinib u pacientů se zvýšeným počtem kopií genu EGFR (14, 15).

Klin Farmakol Farm 2012; 26(4): 181–185

Tabulka 1. Rutinně používané biomarkery cílené terapie

Biomarker	Lokalizace	Druh mutace	Metoda vyšetření	Diagnóza	Léčivo	Typ	Léčba	Způsob podání	Dávkování
c-KIT	4q12	mutace	IHC	GIST	imatinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní, adjuvantní	orálně	400 mg denně nebo 800 mg 2 x denně
HER2	17q21	amplifikace/ nadměrná exprese	IHC, ISH	BrCa	trastuzumab	humanizovaná mAb	paliativní, adjuvantní, neoadjuvantní	intravenózně	úvodní – 4 mg/kg hmotnosti; dále – 2 mg/kg týdně úvodní – 8 mg/kg hmotnosti; dále – 6 mg/kg á 3 týdny
EGFR	7q31	mutace/ delece	PCR	NSCLC	lapatinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně	1250 mg/denně
					erlotinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně	150 mg/denně
					gefitinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně	250 mg/denně
KRAS	12p12	mutace	PCR	CC	cetuximab	chimerická mAb	paliativní	intravenózně	úvodní – 400 mg/m ² ; dále – 250 mg/m ² týdně 500 mg/m ² á 2 týdny
					panitumumab	humanizovaná mAb	paliativní	intravenózně	6 mg/kg hmotnosti á 2 týdny
BRAF	7q34	bodová mutace	PCR	melanom	vemurafenib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně	960 mg/2 x denně
ALK	2p23	inverze (translokace)	IHC, ISH	NSCLC	crizotinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně	250 mg/2 x denně

GIST – gastrointestinální tumor; BrCa – karcinom prsu; NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic; CC – karcinom kolorekta; NIB – nízkomolekulární inhibitor; mAb – monoklonální protilátka; IHC – imunohistochemie; ISH – in situ hybridizace; PCR – polymerázová řetězová reakce

Zvýšená exprese/počet kopií genu EGFR je rovněž, společně s wild-type KRAS, prediktorem dobré odpovědi na léčbu cetuximabem (Erbix) / panitumumabem (Vectibix) u metastatického kolorektálního karcinomu (viz kapitola KRAS) (16).

KRAS

KRAS gen kóduje na membránu vázaný protein s GTPázovou aktivitou, který zprostředkovává signální přenos mezi EGFR a dalšími proteiny proliferční kaskády Ras/Raf/MEK/ERK. Přibližně u 40 % pacientů s kolorektálním karcinodem bývá nalezena mutace genu KRAS, nejčastěji se jedná o bodovou mutaci kodonu 12 (záměna glycinu za valin/asparagin), následovanou mutacemi v kodonu 13 a 61 (17). U KRAS mutovaných případů je onkogenní signál, vzhledem k jeho umístění v signální kaskádě, nezávislý na EGFR aktivaci a u karcinomu kolorekta je proto mutovaný KRAS prediktorem špatné odpovědi na blokátory EGFR (cetuximab/panitumumab) (16, 18). Cetuximab je chimérická protilátka IgG1, která blokuje extracelulární doménu EGFR, stimuluje degradaci EGFR a protinádorovou imunitní odpověď. Cetuximab je indikován pacientům s metastatickým kolorektálním karcinodem s expresí EGFR genu a wild-type KRAS v první i druhé linii léčby, a to jak v monoterapii (po selhání léčby oxaliplatinou a irinotekanem), tak v kombinaci s chemoterapií. Panitumumab je plně humanizovaná protilátka IgG2, blokující signalizaci EGFR, která je indiko-

vaná pacientům s metastatickým kolorektálním karcinodem v monoterapii (po selhání léčby fluoropyrimidinem, irinotekanem a oxaliplatinou) či v kombinaci s chemoterapií (17).

Mutace genu KRAS se vyskytují přibližně u 20 % případů nemalobuněčného plicního karcinomu (NSCLC). KRAS mutace se vyskytují častěji u pacientů s adenokarcinodem, v kavkazské populaci a u kuřáků. U pacientů s NSCLC byl prokázán negativní prediktivní účinek při léčbě gefitinibem/erlotinibem. Nicméně, EGFR a KRAS mutace jsou u NSCLC mutačně exkluzivní, klinický význam vyšetřování KRAS pro predikci účinnosti biologické léčby je tedy minimální (19).

BRAF

BRAF gen kóduje serin/threonin kinázu přenášející signál od proteinu KRAS, jejíž mutace bývá nalezena u 40–70 % melanomů. Z více než 90 % se jedná o substituci valinu za glutamát v kodonu 600 (V600E), která vede k aktivaci kinázové aktivity a přenosu mitogenního signálu. Pacientům s prokázanou mutací V600E a neresekovatelným či metastazujícím melanomem lze v první i dalších liniích léčby indikovat v monoterapii specifický BRAF inhibitor vemurafenib (Zelboraf) (20, 21). Vemurafenib cíleně způsobuje programovanou buněčnou smrt pouze u buněk melanomu s V600E mutací. U pacientů s melanomem bez V600E mutace se zdá, že vemurafenib paradoxně podporuje buněčný růst (22).

ALK

ALK gen kóduje transmembránový tyrosinkinázový receptor, jehož fyziologická funkce není zcela objasněna a za fyziologických podmínek je exprimován pouze v tenkém střevě, mozku a varlatech. Patologická exprese, způsobená inverzí malé části krátkého ramene chromozomu 2 za vzniku fúzního proteinu EML4-ALK, bývá nalezena u 2–7 % pacientů s NSCLC. Tato chromozomální přestavba se vyskytuje u mladších pacientů s adenokarcinodem a nekuřáků bez současných mutací KRAS či EGFR (23). Pacientům s metastatickým či pokročilým plicním karcinodem a prokázanou přestavbou genu ALK lze v monoterapii indikovat crizotinib (Xalkori), duální inhibitor C-MET a ALK, který v druhé fázi klinického testování ukázal velmi slibné výsledky (24, 25).

Biomarkery toxicity léčby

Molekulární biomarkery lze použít i pro personalizaci běžně užívané chemoterapie. Metabolická dráha 5-FU zahrnuje geny, jejichž mutace vedou k systémové toxicitě způsobené hromaděním toxických metabolitů. Mutace a snížená exprese genu DPYD pro dihydropyrimidin dehydrogenázu (DPD), resp. snížená aktivita DPD zodpovědná za odbourávání 5-FU, vede k hromaděni aktivního metabolitu v těle pacienta, a tím extrémní senzitivitě na běžné dávky 5-FU. Bylo nalezeno více jak 50 mutací tohoto genu, které jsou u přibližně 3–5 % populace aso-

ciovány s toxicitou léčby 5-FU (26, 27). Stanovení aktivity enzymu DPD, které lze provést na úrovni mRNA z periferní krve, však v současnosti stále není součástí rutinního screeningového vyšetření před zahájením léčby 5-FU, přestože jde o závažný farmakogenetický problém s fatálními následky (28). Zvýšená exprese thymidylát syntázy (TS) způsobená mutací genu TYMS je spojena také se zvýšenou citlivostí na léčbu 5-FU vedoucí až k toxicitě (29, 30). Podobně mutace v genu pro enzym thiopurin-S-metyltransferázu (TPMT) predikují citlivost k léčbě thiopuriny a mohou vést až ke snížené toleranci běžně užívaných dávek (31).

Homozygotní varianta alely UGT1A1 (UGT1A1*28) je přítomna přibližně u 10% populace a způsobuje výrazné snížení aktivity enzymu UDP-glukuronyltransferázy, který katalyzuje biotransformaci významného protinádorového léčiva – irinotekanu. Významné snížení enzymatické aktivity vede k závažným toxickým postižením. Vyšetření mutace genu je doporučováno FDA od roku 2005 (32), v ČR je dostupné, nicméně není součástí rutinní praxe.

Projevy toxicity mohou být i dobrým prediktorem pro účinnost terapie, jak je tomu u EGFR-cílených terapií (33). Kožní toxicita, zapříčiněná vazbou léčiva na EGFR a inhibicí jeho signální dráhy v keratinocytech, koreluje s dobrou účinností léčby u kolorektálního a plicních karcinomů (1, 34).

Testované biomarkery

Díky intenzivnímu výzkumu posledních let a s rozvojem nových technologií byla identifikována řada markerů, které souvisí se samotným vznikem nádoru či jeho rezistencí na použití cytostatika. Tyto markery jsou v současné době testovány jako potencionální cíle protinádorové terapie (tabulka 2).

C-MET

C-MET proto-onkogen kódující hepatocytární růstový receptor (HGFR) s tyrozin kinázovou aktivitou je amplifikován u celé řady nádorových onemocnění. U NSCLC se získanou rezistencí na gefitinib/erlotinib bývá amplifikace C-MET nalezena přibližně u 20% případů (35). V současnosti je u NSCLC gen C-MET jedním z nejnadějnějších prediktivních markerů, současná blokáda EGFR a C-MET vypadá jako slibná strategie pro léčbu pacientů se získanou rezistencí na gefitinib/erlotinib. Nízkomolekulární inhibitor ARQ197 (tivantinib) se nachází ve fázi III klinického testování. Výsledky fáze II (NCT00777309) potvrdily výrazné zlepšení PFS i OS u pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým neskvamózním plicním karcinomem léčených kombinací tivantinibu a erlotinibu oproti samotnému erlotinibu (36). Dalším testovaným inhibitorem je crizotinib, indikovaný NSCLC pacientům s ALK přestavbou, který vykazuje slibné účinky u pacientů s NSCLC a de novo amplifikací C-MET (37). Crizotinib se zdá být účinný rovněž u pacientů s NSCLC s nedávno objevenou translokací ROS1 (38). Účinnost monoklonální protilátky MetMab (onartuzumab) proti C-MET je testována v klinické studii fáze III (NCT01456325) v kombinaci s erlotinibem u C-MET pozitivních pacientů s pokročilým či metastatickým NSCLC (39).

PI3K/AKT/mTOR

Molekuly účastníci se signální dráhy PI3K/AKT/mTOR patří mezi nejvíce studované v souvislosti se vznikem různých druhů nádorových onemocnění (40–46). PIK3CA mutace a ztráta exprese PTEN je spojena s rezistencí na trastuzumab, respektive s horší prognózou onemocnění při léčbě karcinomu prsu (47, 48) a s rezistencí na léčbu cetuximabem u kolorektálního karcinomu (49). Dvě hlavní aktivační mutace PIK3CA (E545K a H1047R) a mutace PTEN, vedoucí ke ztrátě funkce, jsou spojeny s rezistencí na lapatinib u pokročilého HER2 pozitivního prsního karcinomu (50). Cestou ke zvrácení rezistence je duální inhibitor PI3K/mTOR NVP-BEZ235 (51), který je v současnosti testován v klinických studiích I a II fáze (NCT00620594). U celé řady nádorových onemocnění se v klinických studiích testují také další nízkomolekulární inhibitory PI3K jako BKM120 – panPI3K inhibitor (NCT01501604) či BYL719 – selektivní inhibitor PI3K (NCT01219699).

U pacientů s karcinomem prsu a mutací AKT byla prokázána rezistence na tamoxifen. AKT mutantní karcinomy jsou cílem nových inhibitorů účastnících se klinických studií jako např. panAKT inhibitor MK-2206 (52). Inhibitory mTOR jsou používány pro léčbu různých typů malignit (53, 54, 55). V současnosti je studium zaměřeno zejména na odhalení prediktorů účinnosti mTOR cílené léčby.

U pacientů s karcinomem prsu a mutací AKT byla prokázána rezistence na tamoxifen. AKT mutantní karcinomy jsou cílem nových inhibitorů účastnících se klinických studií jako např. panAKT inhibitor MK-2206 (52). Inhibitory mTOR jsou používány pro léčbu různých typů malignit (53, 54, 55). V současnosti je studium zaměřeno zejména na odhalení prediktorů účinnosti mTOR cílené léčby.

BRCA1/2

Cílená léčba karcinomů prsu a ovarií s BRCA1/2 mutacemi je zaměřena na využití tzv. „synthetic lethality“ principu za použití inhibitorů poly (ADP-ribóza) polymerázy (PARP). Předpokladem je zablokování excizní opravy DNA zajišťovanou PARP, která společně s BRCA1/2 mutacemi, poškozujícími opravy dvouvláknových zlomů, vede k usmrcení buněk (56). Klinické studie fáze II u pokročilého karcinomu prsu a ovarií přinesly slibné výsledky v léčbě olaparibem (KU-59436, AZD2281) (57, 58). Taktéž klinické studie druhé a třetí fáze zaznamenaly úspěchy v léčbě triple-negativního karcinomu prsu iniparibem (BSI-201) v kombinaci s gemcitabinem a karboplatinou (59, 60). Součástí klinického testování jsou i další PARP inhibitory jako

Tabulka 2. Testované biomarkery cílené terapie

Biomarker	Lokalizace	Druh mutace	Diagnóza	Léčivo	Typ	Léčba	Způsob podání
ROS1	6q22	translokace	NSCLC	crizotinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
C-MET	7q31	amplifikace	NSCLC	tivantinib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
				onartuzumab	humanizovaná mAb	paliativní	intravenózně
PI3K	3q26.3	mutace	BrCa	NVP-BEZ235	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
				BKM120	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
			AST	BYL719	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
AKT	14q32.32	mutace	AST	MK-2206	alostérický inhibitor	paliativní	orálně
BRCA1/2	17q21/13q12.3	mutace	BrCa a ca ovarií	olaparib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
			TNBC	iniparib	ATP kompetitivní NIB	paliativní	orálně
MGMT	10q26	hypermetylace	nádory CNS	temozolomid	alkylační činidlo	paliativní	orálně
TOP2A	17q21.2	amplifikace	BrCa	antracykliny	inhibitor topoizomerázy	paliativní, adjuvantní	intravenózně

BrCa – karcinom prsu; NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic; TNBC – triple negativní karcinomy prsu; AST – pokročilé solidní nádory; CNS – centrální nervová soustava; NIB – nízkomolekulární inhibitor; mAb – monoklonální protilátka

AG-014966, ABT-888, MK-4827 (61). Uplatnění principu „synthetic lethality“ a účinek PARP inhibitorů se předpokládá také u tzv. „BRCAness“ nádorů, které sice nenesou BRCA1/2 mutace, ale systém opravy DNA mají poškozený jiným způsobem. Příkladem může být poškození genu PTEN, jež podle posledních poznatků vede ke genomové nestabilitě (62, 63) a které ve studii na *in vitro* a xenograftových modelech zvyšuje účinek PARP inhibitorů na nádorové buňky (64).

MGMT

Nové biomarkery se testují i na epigenetické úrovni. Umlčení MGMT genu pro O-6-metylguanin-DNA metyltransferázu, prostřednictvím hypermetylace promotoru, vede ke snížení exprese MGMT, což je spojeno s lepší odpovědí na léčbu alkylačními činidly (65), resp. temozolomidem u gliálních nádorů mozku (66). Zavedení testování MGMT do rutinní diagnostiky brání především nejednotnost používaných analytických metod pro určení míry metylace.

Závěr

Intenzivní výzkum v oblasti klinické onkologie přinesl za poslední desetiletí celou řadu nových léčiv a prediktorů léčebné odpovědi, což umožnilo personalizovat terapii na základě genetických/expresních změn nádoru. Markery jako HER2, EGFR, KRAS, BRAF a ALK, jejichž prediktivní význam byl prokázán řadou klinických studií, jsou v současné době nedílnou součástí rutinní diagnostiky, jejich testování má bezesporu zásadní vliv na volbu adekvátního terapeutického postupu a zkvalitnění života konkrétního pacienta.

V probíhajících klinických studiích je sledována řada dalších biomarkerů, jejichž alterace jsou u různých nádorových onemocnění často nacházeny a stávají se tak potencionálními cíly pro protinádorovou terapii. Velkým problémem stále zůstává nejednotnost diagnostických metod a hodnotících kritérií jednotlivých studií a v řadě případů rovněž minimální množství materiálu, které je limitující pro kvalitní stanovení všech potencionálních markerů. Příslibem pro identifikaci nových cílů protinádorové terapie jsou moderní techniky jako sekvenování nové generace a čipové technologie umožňující získání kompletní informace o celém genomu/transkriptomu pacienta v rámci jednoho vyšetření.

Práce byla podpořena granty IGA MZČR NT13569, IGA MZČR NT13581, GAČR 303/09/H048, IGA LF_2012_017 a BIOMEDREG CZ.1.05/2.1.00/01.0030.

Literatura

1. Fusek M, Vítek L, Blahoš J, Hajdúch M, Ruml T. Biologická léčiva: Teoretické základy a klinická praxe. 1 ed. Praha: Grada Publishing; 2012.
2. Davies C, Godwin J, Gray R, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2011; 378: 771–784.
3. Pavay T, Hoyle M, Ciani O, et al. Dasatinib, nilotinib and standard-dose imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukaemia: systematic reviews and economic analyses. *Health Technol Assess* 2012; 16: 1–277.
4. Liu SL, Chen G, Zhao YP, Wu WM, Zhang TP. Optimized dose of imatinib for treatment of gastrointestinal stromal tumors: A meta-analysis. *J Dig Dis* 2012.
5. Gutierrez C, Schiff R. HER2: biology, detection, and clinical implications. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 55–62.
6. De Maio E, Pacilio C, Gravina A, et al. Vinorelbine plus 3-weekly trastuzumab in metastatic breast cancer: a single-centre phase 2 trial. *BMC Cancer* 2007; 7: 50.
7. Burstein HJ, Keshaviah A, Baron AD, et al. Trastuzumab plus vinorelbine or taxane chemotherapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: the trastuzumab and vinorelbine or taxane study. *Cancer* 2007; 110: 965–972.
8. Cameron D, Casey M, Oliva C, et al. Lapatinib plus capecitabine in women with HER-2-positive advanced breast cancer: final survival analysis of a phase III randomized trial. *Oncologist* 2010; 15: 924–934.
9. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet* 2012; 379: 633–640.
10. Blackwell KL, Burstein HJ, Storniolo AM, et al. Randomized study of Lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with ErbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1124–1130.
11. Chua TC, Merrett ND. Clinicopathologic factors associated with HER2-positive gastric cancer and its impact on survival outcomes—a systematic review. *Int J Cancer* 2012; 130: 2845–2856.
12. Bang YJ, Van CE, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687–697.
13. Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2009; 28 Suppl 1: S24–S31.
14. Dahabreh IJ, Linardou H, Kosmidis P, Bafaloukos D, Murray S. EGFR gene copy number as a predictive biomarker for patients receiving tyrosine kinase inhibitor treatment: a systematic review and meta-analysis in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2011; 22: 545–552.
15. Dahabreh IJ, 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: 291–303.
16. Tsoukalas N, Tzavaras AA, Tolia M, et al. Meta-analysis of the predictive value of KRAS mutations in treatment response using cetuximab in colorectal cancer. *J BUON* 2012; 17: 73–78.
17. Brand TM, Wheeler DL. KRAS mutant colorectal tumors: Past and present. *Small GTPases* 2012; 3: 34–99.
18. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408–1417.
19. Riehl GJ, Marks J, Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc* 2009; 6: 201–205.
20. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011; 364: 2507–2516.
21. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N Engl J Med* 2012; 366: 707–714.
22. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, et al. PLX4032, a selective BRAF (V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23: 190–200.
23. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4247–4253.
24. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010; 363: 1693–1703.
25. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1004–1012.
26. Wei X, McLeod HL, McMurrough J, Gonzalez FJ, Fernandez-Salguero P. Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. *J Clin Invest* 1996; 98: 610–615.
27. Lu Z, Zhang R, Carpenter JT, Diasio RB. Decreased dihydropyrimidine dehydrogenase activity in a population of patients with breast cancer: implication for 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 325–329.
28. Ciccolini J, Gross E, Dahan L, Lacarelle B, Mercier C. Routine dihydropyrimidine dehydrogenase testing for anticipating 5-fluorouracil-related severe toxicities: hype or hope? *Clin Colorectal Cancer* 2010; 9: 224–228.
29. Edler D, Glimelius B, Hallstrom M, et al. Thymidylate synthase expression in colorectal cancer: a prognostic and predictive marker of benefit from adjuvant fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1721–1728.
30. Afzal S, Gusella M, Vainer B, et al. Combinations of polymorphisms in genes involved in the 5-Fluorouracil metabolism pathway are associated with gastrointestinal toxicity in chemotherapy-treated colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3822–3829.
31. Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2293–2301.
32. Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1382–1388.
33. Parmar S, Schumann C, Rudiger S, et al. Pharmacogenetic predictors for EGFR-inhibitor-associated skin toxicity. *Pharmacogenomics J* 2011.
34. Petrelli F, Borgonovo K, Cabiddu M, Lonati V, Barni S. Relationship between skin rash and outcome in non-small-cell lung cancer patients treated with anti-EGFR tyrosine kinase inhibitors: a literature-based meta-analysis of 24 trials. *Lung Cancer* 2012; 78: 8–15.
35. Bean J, Brennan C, Shih JY, 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 U S A* 2007; 104: 20932–20937.
36. Sequist LV, von Pawel J, Garmey EG, et al. Randomized phase II study of erlotinib plus tivantinib versus erlotinib plus placebo in previously treated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3307–3315.
37. Ou SH, Kwak EL, Siwak-Tapp C, et al. Activity of crizotinib (PF02341066), a dual mesenchymal-epithelial transition (MET) and anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitor, in a non-small cell lung cancer patient with de novo MET amplification. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 942–946.
38. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* 2012; 30: 863–870.
39. Spigel DR, Edelman MJ, Mok T, et al. Treatment Rationale Study Design for the MetLung Trial: A Randomized, Double-Blind Phase III Study of Onartuzumab (MetMab) in Combination With Erlotinib Versus Erlotinib Alone in Patients Who Have Received Standard Chemotherapy for Stage IIIB or IV Met-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2012; 13: 500–504.

40. Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1075–1083.
41. Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943–1947.
42. Lee JW, Soung YH, Kim SY, et al. PIK3CA gene is frequently mutated in breast carcinomas and hepatocellular carcinomas. *Oncogene* 2005; 24: 1477–1480.
43. Janku F, Wheler JJ, Westin SN, et al. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in patients with breast and gynecologic malignancies harboring PIK3CA mutations. *J Clin Oncol* 2012; 30: 777–782.
44. Nosho K, Kawasaki T, Ohnishi M, et al. PIK3CA mutation in colorectal cancer: relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia* 2008; 10: 534–541.
45. Whang YE, Wu X, Suzuki H, et al. Inactivation of the tumor suppressor PTEN/MMAC1 in advanced human prostate cancer through loss of expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 5246–5250.
46. Rasheed BK, Stenzel TT, McLendon RE, et al. PTEN gene mutations are seen in high-grade but not in low-grade gliomas. *Cancer Res* 1997; 57: 4187–4190.
47. Berns K, Horlings HM, Hennessy BT, et al. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. *Cancer Cell* 2007; 12: 395–402.
48. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 2004; 6: 117–127.
49. Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res* 2008; 68: 1953–1961.
50. Eichhorn PJ, Gili M, Scaltriti M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase hyperactivation results in lapatinib resistance that is reversed by the mTOR/phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor NVP-BEZ235. *Cancer Res* 2008; 68: 9221–9230.
51. Maira SM, Stauffer F, Brueggen J, et al. Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 1851–1863.
52. Yap TA, Yan L, Patnaik A, et al. First-in-man clinical trial of the oral pan-AKT inhibitor MK-2206 in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4688–4695.
53. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 2271–2281.
54. Galanis E, Buckner JC, Maurer MJ, et al. Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5294–5304.
55. Yu K, Toral-Barza L, Discafani C, et al. mTOR, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8: 249–258.
56. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. *Nature* 2005; 434: 913–917.
57. Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 2010; 376: 245–251.
58. Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 2010; 376: 235–244.
59. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen J, et al. Efficacy of BSI-201, a poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) inhibitor, in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in patients with metastatic triple-negative breast cancer (TNBC): Results of a randomized phase II trial. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27.
60. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen JE, et al. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 205–214.
61. Underhill C, Toulmonde M, Bonnefoi H. A review of PARP inhibitors: from bench to bedside. *Ann Oncol* 2011; 22: 268–279.
62. Shen WH, Balajee AS, Wang J, et al. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity. *Cell* 2007; 128: 157–170.
63. Gupta A, Yang Q, Pandita RK, et al. Cell cycle checkpoint defects contribute to genomic instability in PTEN deficient cells independent of DNA DSB repair. *Cell Cycle* 2009; 8: 2198–2210.
64. Mendes-Pereira AM, Martin SA, Brough R, et al. Synthetic lethal targeting of PTEN mutant cells with PARP inhibitors. *EMBO Mol Med* 2009; 1: 315–322.
65. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000; 343: 1350–1354.
66. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 997–1003.

Článek přijat redakcí: 3. 10. 2012

Článek přijat k publikaci: 15. 11. 2012

Mgr. Vladimíra Koudeláková

Lékařská fakulta Univerzity Palackého
Hněvotínská 5, 775 15 Olomouc
koudelakovav@gmail.com
