

XXXI. OTDK Biológia Szekció



Döntéshozó rendszer fejlesztése rákos betegek molekulárisan célzott egyénre szabott terápiájához

Kirsch Klára

Biomérnöki MSc., II. évfolyam
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Témavezető:

Dr. Peták István, PhD

tudományos igazgató

KPS Orvosi Biotechnológiai és Egészségügyi Szolgáltató Kft.

Belső konzulens:

Dr. Poppe László

egyetemi tanár

BME-VBK Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2012.12.18.

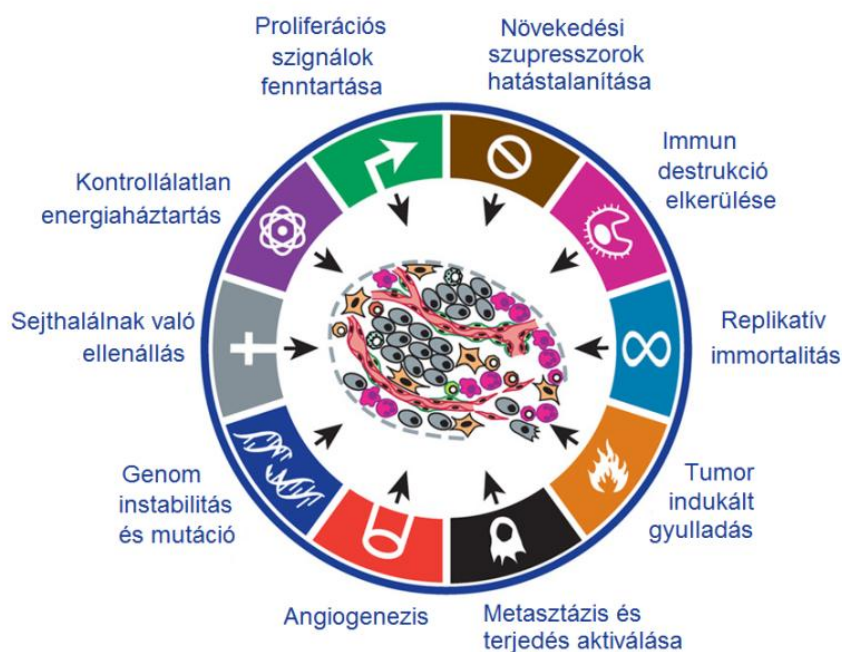
Tartalom

1.	Bevezetés.....	4
1.1.	A jelátviteli rendszerek és a tumorra szabott terápia.....	5
1.1.1.	A célzott terápia molekuláris biológiai megfontolásai	5
1.1.2.	Sikerek a daganatos betegek egyénre szabott kezelésében.....	7
1.1.3.	Az egyénre szabott terápia buktatói és megválaszolatlan kérdései.....	8
1.2.	Tirozin-kináz receptorok	8
1.2.1.	Az epidermális növekedési faktor receptor (ErbB) család	9
1.2.2.	c-KIT, PDGFRA és FLT3	14
1.2.3.	VEGFR2	16
1.2.4.	c-MET.....	16
1.2.5.	RET	16
1.2.6.	ALK.....	17
1.3.	Nem receptor tirozin-kinázok	17
1.3.1.	ABL	17
1.3.2.	SRC	18
1.4.	PI3K-AKT-mTOR jelút.....	18
1.4.1.	PIK3CA	19
1.4.2.	PTEN	20
1.5.	RAS-RAF-MEK-ERK jelút	20
1.5.1.	KRAS, HRAS és NRAS	20
1.5.2.	BRAF.....	21
2.	Célkitűzés.....	22
3.	TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™	23
3.1.	Módszerek.....	23
3.2.	Eredmények	25

3.2.1. Fontos megállapítások	27
4. TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™	29
4.1. Módszerek	29
4.2. Eredmények	30
4.3. Perspektívák	34
5. Összefoglalás	35
6. Irodalomjegyzék	36
7. Függelék	50
7.1. TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™-hez felhasznált közlemények jegyzéke	50
7.2. A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™-hez felhasznált közlemények jegyzéke és evidenciájuk	59
Köszönetnyilvánítás	65

1. Bevezetés

Mára egyértelműen bebizonyosodott, hogy a rák genetikai eredetű betegség, amelyet molekuláris hibák (génhibák, epigenetikai hibák) okoznak. A daganat kialakulása többlépcsős folyamat következménye, mely során előnyös sejtosztódási tulajdonságokkal rendelkező transzformált sejtek jönnek létre. A tumor kialakulása, fenntartása és fejlődése hátterében 10 mechanizmus áll (lásd **Hiba! A hivatkozási forrás nem található.** ábra) [1]. Ezek a mechanizmusok 460 génnel állnak kapcsolatban melyekről már bizonyították, hogy proto-onkogén vagy tumorszupresszor szerepet töltenek be. A génterméket gyógyszeresen célozva megpróbálhatjuk meggátolni a daganat túlélését, további növekedését és terjedését [2]. A tumor célzott terápiájához a daganatsejtben felhalmozódott genetikai hibák közül molekuláris biológiai elvek alapján ki kell választani a daganat növekedése szempontjából legfontosabb vezérlő („driver”) hibát. A driver hiba lehet egy gén mutációja, transzlokációja, amplifikációja vagy a fehérje overexpressziója is. A Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) adatbázis a rákgéneknek ma már több 540.000 féle szomatikus mutációját tartalmazza [8].



1. ábra A daganat túlélési mechanizmusai [1]

1.1. A jelátviteli rendszerek és a tumorra szabott terápia

A jelátvitel fő mechanizmusának a fehérjék foszforilációját tekintik. A növekedés szabályozásának jelátvitelére ligand specifikus tirozin-kináz aktivitású növekedési faktor receptorokkal indul. A ligand elindítja a sejtfelszíni receptorral kapcsolatba hozható fehérje foszforilációs kaszkádokat, melyek a jelet egészen a sejtmagig továbbítják. A daganatsejtben ez a folyamat ligandum jelenlététől függetlenül is működik, ha a növekedési faktor receptorok vagy a downstream jelátviteli molekulák konstitutívan aktívak funkciónyerő mutáció miatt. A másik onkogenitásért felelős mechanizmus lehet a receptor amplifikációja és/vagy overexpressziója, mely növeli az aktivációhoz szükséges dimerizáció esélyét, így a jelátvitel a normálisnál fokozottabb mértékű [3]. Nem meglepő tehát, hogy az onkogének jelentős része protein kinázokat kódol, amelyek daganatsejtben a hozzájuk tartozó összes jelátviteli utat képesek felülszabályozni. A molekulárisan célzott terápia legtöbb esetben az onkogén növekedési faktorok receptorok által létrehozott hamis illetve felerősödött jelek gátlását célozza meg.

Az onkológia új irányvonalának, a molekulárisan célzott terápiának az alapját a diagnosztika képezi. Ma már az újgenerációs technológiákkal képesek vagyunk a különféle genetikai meghibásodások detektálására, úgymint a DNS szekvencia variációjának (pl. pontmutáció, inzerció, delécio), a DNS szerkezeti átrendeződésének (transzlokációk) és kópia szám változásoknak (teljes DNS szegmens delécioja, duplikációja vagy amplifikációja) felismerésére [6]. Napjaink legmodernebb molekuláris diagnosztikai panelje következő generációs szekvenálási technológiával egyszerre 50 rákgén 207 amplikonjának mutációanalízisére képes (Ion TorrentTM HotSpot panel). A technológiai fejlesztések iránya tehát adott. A jövő célja, hogy a klinikai gyakorlatba bevezethessük ezeket a vizsgálatokat, hogy minden egyes daganatos betegnek megállapítsuk a tumor biomarker profilját. Sajnos ma ez még korlátozott keretek között zajlik, mivel az egyénre szabott terápia egészségügyi finanszírozási rendszere még nem alakult ki.

1.1.1. A célzott terápia molekuláris biológiai megfontolásai

A célzott terápiához a hibás onkogének/tumorszupresszorok jellemzői alapján kell meghatározni, hogy melyik az a fehérje, amelynek gyógyszeres gátlásával megszüntethetjük a jelátviteli útvonal túlműködését (**Hiba! A hivatkozási forrás nem található.** ábra). Ehhez az alábbi megfontolásokat kell figyelembe vennünk:

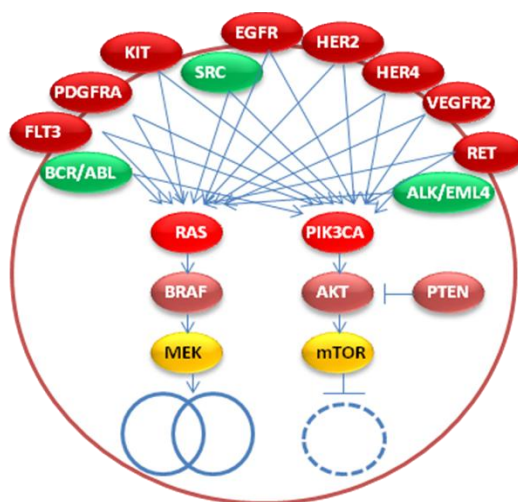
- **Terápiás hatást várhatunk**, ha konstitutívan aktív proto-onkogént, vagy az útvonalon lévő downstream fehérjét gátoljuk.
- **Terápiás hatást várhatunk**, ha a funkcióját veszített tumorszupresszorral downstream kapcsolatban álló fehérjét gátoljuk.
- **Terápiás hatást várhatunk**, ha két különböző útvonalon elhelyezkedő fehérje aktiváló mutációja esetén, mindkét fehérjét vagy downstream útvonalát gátoljuk.
- **Nem jelent terápiás hatást**, ha egy proto-onkogén aktiváló mutációja vagy egy tumorszupresszor funkcióvesztéses mutációja esetén az upstream fehérjét gátoljuk, mivel az útvonal aktivitása transzdukciós szignál jelenlététől független.

A fent említett megfontolások leegyszerűsített modellek, mivel sok esetben az útvonal bonyolultsága miatt (negatív visszacsatolások, párhuzamos útvonallal való kapcsolat stb.) más összefüggésekkel is számolnunk kell.

Biomarkerek kombinálódásának szempontjából:

- Párhuzamos úton lévő fehérjék közül egy-egy aktivációja kombinálódhat (pl. PIK3CA és KRAS), mivel így egymást erősítik a túlélési mechanizmusok.
- Egy útvonalon belül nem fordulhat elő két egymás alatt lévő fehérje aktiváló mutációja, mivel az nem jelentene további szelekciós előnyt (pl. KRAS és EGFR) [101]

Reményeink szerint nem lesz végtelen a biomarkerek kombinálódásának lehetősége, mivel a biológiailag értelmetlen, azaz a természetes szelekció során nem hasznos kombinációk kialakulása irreleváns. Célunk az, hogy feltérképezzük a legvalószínűbb kombinációkat és megállapítsuk ezek biológiai és terápiás konzekvenciáit.

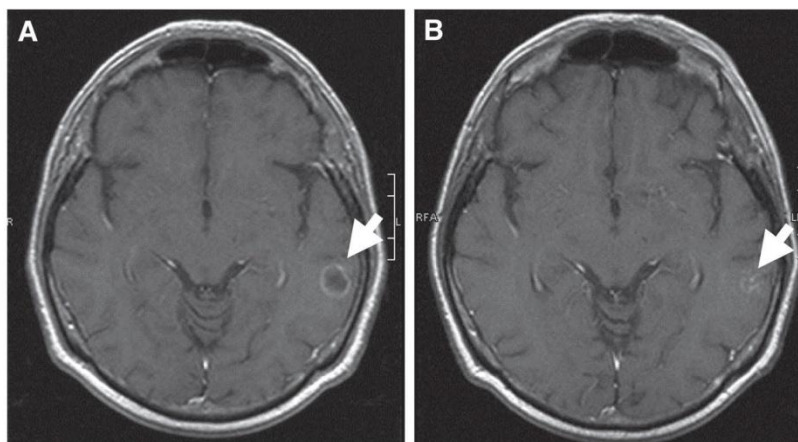


2. ábra A legfontosabb onkogének/tumorszupresszorok helye a jelátviteli folyamatban

1.1.2. Sikerek a daganatos betegek egyénre szabott kezelésében

63 éves nem-kisssejtes adenocarcinómában (NSCLC) szenvedő beteg daganatát 2000-ben sebészeti úton eltávolították és adjuváns kemoterápiában részesült. 2003-ban agyi metasztázist fedeztek fel, mely a teljes agyi sugárterápiára nem reagált. Tekintetbe véve a beteg életveszélyes állapotát és egy reményt adó tanulmányt a kezelést egy új, célzott gyógyszerrel, a gefitinibbel folytatták 2004 januárjában. A beteg komplett remisszióját 2004 októberében állapították meg, amikor már nem volt jelen agyi és az időközben talált tüdő daganatok sem (**Hiba! A hivatkozási forrás nem található.**). A primer tumor retrospektív analízisekor az EGFR gén amplifikációját és a 19. exon L747-S752/P753S delécióját mutatták ki, amely aktiváló mutáció prognosztizáló faktora a gefitinib hatékonyságának [15,14].

Ez a tanulmány akkor született, amikor a gefitinibet tesztelő klinikai vizsgálatokhoz az EGFR mutációs státuszától függetlenül választották ki a betegeket, így nem meglepő, hogy a vizsgálatok során néhány sporadikus esettől eltekintve nem volt tapasztalható javulás. A retrospektív vizsgálatok során viszont kiderült, hogy az EGFR mutációt hordozó betegek 100%-a reagált a kezelésre, a vad típusú betegek viszont csak néhány százalékban. Ma már preklinikailag és klinikailag is bizonyított, hogy a gefitinib kizárólag EGFR érzékenyítő mutációjával rendelkező beteg esetében hatásos, ezért nagyon fontos, hogy a kezelés előtt megállapítsuk a tumor genetikai elváltozásait [19, 103].



3. ábra Gefitinib kezelés hatása az agyi áttétre [14]

(A: 2004. jan.; B: 8 héttel később)

1.1.3. Az egyénre szabott terápia buktatói és megválaszolatlan kérdései

Néhány célzott gyógyszer (pl. vemurafenib) törzskönyvében már szerepel a biomarker vizsgálatának szükségessége. Ha diagnosztizáljuk a kezeléshez szükséges biomarkert, a legelső felmerülő kérdés az lehet, hogy a tumorminta reprezentálja-e az egész tumort? Nem kell-e feltételeznünk, hogy a tumorhoz tartozó sejtek különböző biomarker mintázattal is rendelkezhetnek? Ezt a problémát átvihetjük a metasztázisokra is. A daganatos betegek kezelésekor az esetek jelentős százalékában a primer tumor már nincs jelen, hanem csak az áttéteket kezeljük és a legtöbb esetben az áttétekből nem tudunk mintát venni. Kérdés az, hogy az áttét biomarker profilja ugyanolyan-e, mint a primer tumoré, amiből a genetikai információkat nyertük? Ha nem, akkor melyek azok a gének, amelyek a metasztázisokban szerepet nyernek? Ha a keringésben lévő daganatsejteket vizsgáljuk, reprezentálják-e a metasztázis képzésre alkalmasakat [2]?

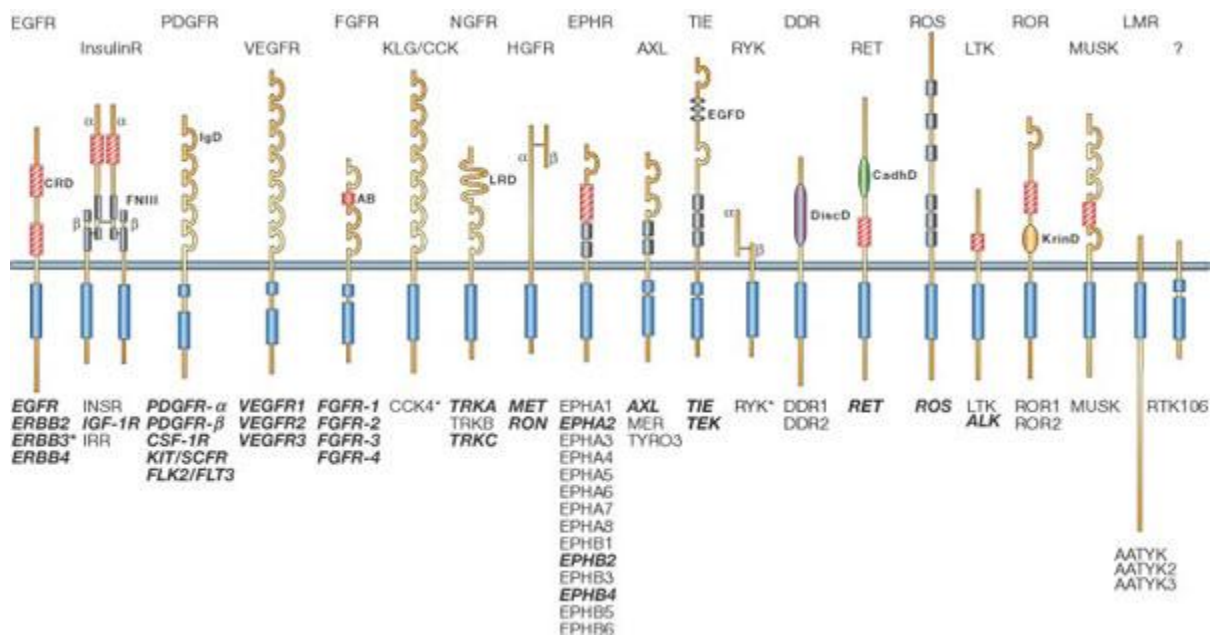
A célzott kezelés ugyanúgy, mint hagyományos kemoterápia a tumor őssejtekre hatástalan lehet. A tumor őssejtek a normál őssejtekhez hasonlóan ABC (ATP kötő kazetta) transzporterekkel rendelkeznek, melyek a sejtbe bekerülő gyógyszermolekulákat kipumpálják. Így a gyógyszeres kezelés hatására a tumorsejtek elpusztulnak, de a tumor őssejtekre nem hat a terápia. A kezelés után ezért újra elindulhat a kolonizáció. Ha az eredetihez hasonló tumorsejtek keletkeznek, akkor az első terápiára újra reagálni fognak, de ha új biomarker profillal rendelkező tumorsejteket keletkeznek, az eredeti terápiára már rezisztensek lehetnek. A tumor őssejtek elpusztításához ABC transzporter gátlók vagy a tumor őssejt differenciálódásért felelős Hedgehog-Patched útvonal inhibitorok jelentik a terápiás lehetőséget [102].

Ha a célzott terápia sikertelen lesz, annak oka vajon a betegség előrehaladott állapota lesz-e, vagy az, hogy a mai tudásunk és diagnosztika hátterünk alapján nem sikerült megtalálni az igazi célpontot?

1.2. Tirozin-kináz receptorok

A receptor tirozin kinázok (RTK-k) (4. ábra); extracelluláris ligand kötő doménből, transzmembrán doménből és intracelluláris katalitikus doménből állnak [4]. Az RTK-k ligand kötődésének hatására dimerizálódnak (kivéve az inzulinreceptort, amely nyugalmi állapotban is dimer). Ekkor a tirozin kináz aktivitású intracelluláris doménben az aktivációs hurok tirozin

oldalláncai a bekötődött ATP molekula γ -foszfátjával foszforilálódnak, és a dimer konformációja miatt képesek lesznek további tirozin oldalláncok autofoszforilációjára és a downstream fehérjék aktiválására is [5]. Ha a receptort kódoló gén mutációja miatt a receptor aktiválásához nem szükséges ligand, akkor konstitutívan aktiv lesz, ezt a mutációt hívjuk a receptor funkciónyerő vagy aktiváló mutációjának.



4. ábra Az RTK alcsaládok [4]

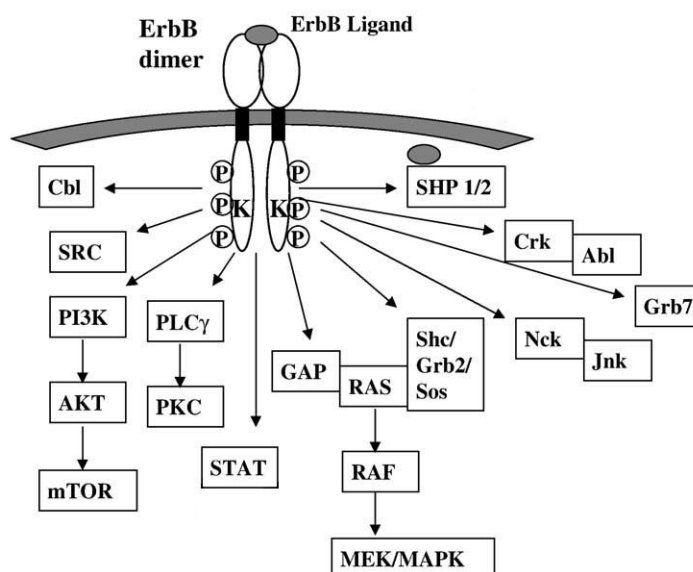
Felül az alcsalád prototípus-receptora, alul az ismert alcsaládtagok. A vastag betűkkel írt receptorok proto-onkogének. A *-gal jelölt tagok nem rendelkeznek kináz aktivitással.

1.2.1. Az epidermális növekedési faktor receptor (ErbB) család

Az ErbB család tagjai az EGFR, HER2, HER3 és HER4 (növekedési faktor receptor 1-4) transzmembrán tirozin-kináz receptorok, melyek elsősorban epiteliális sejteken vannak jelen. A receptorokat aktiváló ligandok (EGF (epidermális növekedési faktor), TGF α (transzformáló növekedési faktor), amfiregulin, heregulin, heparinkötő EGF, epiregulin, epigen és β -cellulin) az extracelluláris részhez kötődnek. A ligandkötés után a receptorok homo- vagy heterodimert képeznek a család valamely tagjával, így bekövetkezik a tirozin-kináz domén foszforilációja, majd a jelútaktiválás. A HER2 nem képes ligandot kötni, valamint a HER3 tirozin-kináz aktivitása defektív, ezért ezek aktiválódása csak

heterodimerizációval lehetséges. A ligand és dimer partnerek is meghatározzák, hogy melyik jelátviteli út fog működni.

Az ErbB család által aktiválható útvonalakat szemlélteti a 5. ábra. A daganatsejtekben leggyakrabban a PI3K/AKT apoptózis gátló és Ras/MAPK proliferációért felelős útvonalak aktiválódnak, melyeket a 1.4 és 1.5 fejezetekben részletezek. Az EGFR és a HER2 a PI3K-AKT utat a GRB2 (növekedési faktor receptor-adaptor fehérje) és a GAB1 (GRB2 kötő fehérje) közreműködésével aktiválja, viszont a HER3 és HER4 közvetlen kötődéssel is képes aktiválni a PI3K-t (foszfoinozitol-3-kináz). Ennek tulajdonítató az, hogy a leggyakoribb dimer a HER2/HER3, mivel ez működik a leghatékonyabban [2].



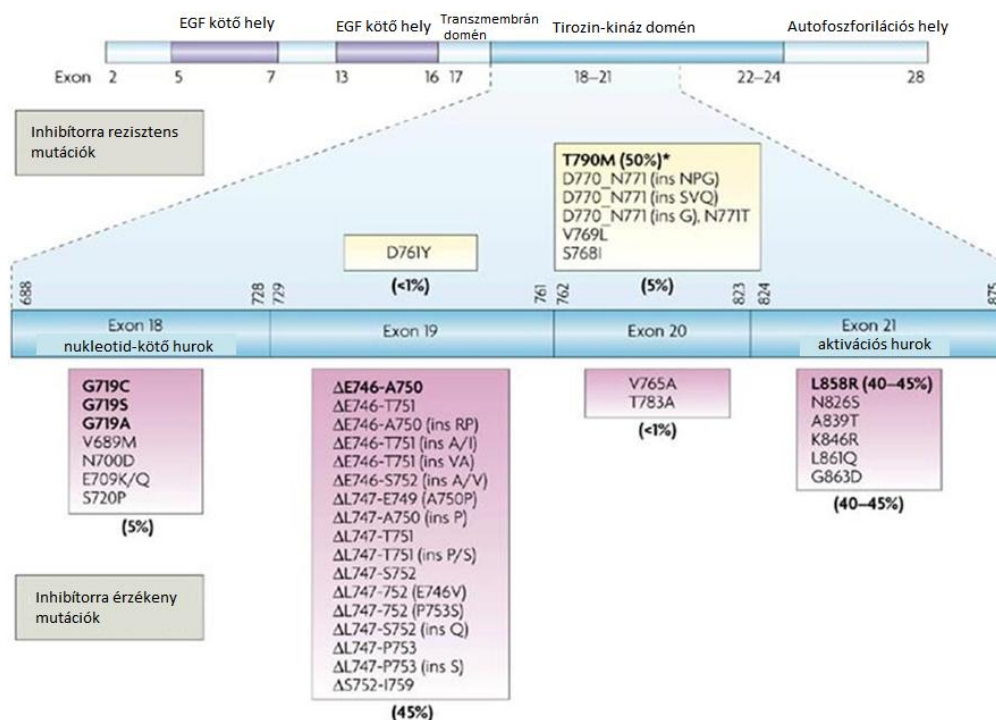
5. ábra Az ErbB receptorok által aktiválható jelátviteli útvonalak [17]

A két fő jelátviteli útvonalon kívül számos szabályozó útvonal áll kapcsolatban ErbB receptorokkal, melyeknek kiemelkedő szerepe van a sejtproliferációban és ehhez szükséges transzkripciós faktorok szabályozásában, illetve az apoptózis indukálásában [2,18].

1.2.1.1. EGFR (EGFR1, ERBB1, HER1)

AZ EGFR volt az első receptor, amit közvetlenül kapcsolatba hozták a rákkal. Aktiváló mutációi leggyakrabban tüdő adenokarcinómákban fordulnak elő (14%). De leírták már mutációit nem-kissejtes tüdőrák laphámrák formájában is (1-5%), kissejtes tüdőrákban (4%), mesotheliomákban (3%), tripla negatív emlőrákban (12%), ovárium karcinómában (2%), gyomor adenokarcinómákban (4-5%) is. Amplifikációja is előfordul többek között tüdődaganatokban, vastagbél-daganatokban, glioblasztómákban.

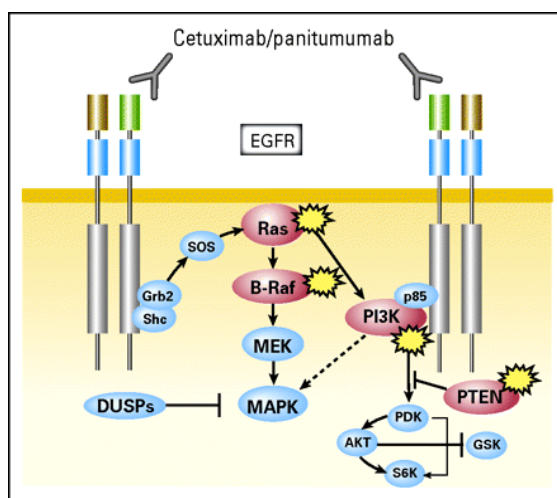
Az EGFR gátlásra a kifejlesztett gyógyszer a gefitinib (Iressa®) és az erlotinib (Tarceva®), melyek a legjobban jellemzett és vizsgált kis molekulású tirozin kináz inhibitorok (TKI). Első generációs reverzibilis gátlók, melyek az intracelluláris domén ATP kötő helyére kötődve, kompetitív akadályozzák a receptor foszforilációját. Gefitinibre és erlotinibre érzékenyítő az L858R funkciónyerő pontmutáció, amely a leggyakoribbak EGFR mutáció (36% a COSMIC adatbázis szerint) [8]. Gyakoriak még a 19-es exon érzékenyítő deléciós mutánsai is. Az extracelluláris doménben is megfigyeltek aktiváló misszenz mutációkat (R108K, T263P, A289V, G598V), melyek TKI-re szintén érzékenyítőnek bizonyultak [10]. Az első generációs TKI-re rezisztenciát okozó mutációk közül a leggyakoribb T790M pontmutáció, amely legtöbb esetben gefitinibbel vagy erlotinibbel való kezelés során szelekciós nyomásra, mint másodlagos mutáció alakul ki az L858R vagy 19-es exon deléciós mutáció mellett. A rezisztencia a sztérikus gátlásnak, új feltételezések szerint pedig a megnövekedett ATP kötő affinitásnak az eredménye [11,12]. A 20. exonra eső in frame inzerciók pl. D770_N771insNPG primer rezisztenciát okoznak. Rezisztencia mutációt hordozó betegek kezelésére új generációs irreverzibilisen kötődő inhibitorok (pl. afatinib) már klinikai vizsgálatban vannak [13]. Összefoglalva a tirozin-kináz domén mutációkat a 6. ábra EGFR mutációk helye tartalmazza [9].



6. ábra EGFR mutációk helye, gyakorisága és érzékenysége első generációs TKI-ra [9]

Bár az első generációs EGFR inhibitorok nagyon jó klinika eredményeket mutatnak NSCLC esetében, és más EGFR aktiváló mutációt hordozó daganatokban is, nagyon fontos, hogy a TKI rezisztencia mutációt hordozó betegeket kiszűrjük a kezelés előtt. Ma már az EGFR mutáció kimutatásának fontosságát az ASCO (American Society of Clinical Oncology) is támogatja az anti-EGFR kezelés tervezésekor [2,73,74,75].

A cetuximab (Erbitux®) monoklonális antitestet EGFR-t expresszáló daganatokra törzskönyvezték, mely az extracelluláris doménhez kötődve kompetitív gátolja a ligand kötődését. A legújabb vizsgálatok alapján viszont EGFR overexpressziója vagy amplifikációja nem biztosít terápiás előnyt. Kontraindikáció a mutáns KRAS (GDP/GTP kötő fehérje) jelenléte, de bármely downstream fehérje aktiváló mutációja kizárja a cetuximab és a másik forgalomban lévő EGFR antitest, a panitumumab (Vectibix ®) hatásosságát is (lásd 7. ábra). Preklinikai és klinikai vizsgálatok igazolják, hogy a cetuximabra való érzékenységet az EGFR extracelluláris domén deléciós mutációja (EGFRvIII) vagy a tirozin-kináz domén mutációi sem befolyásolják, így sikeresen alkalmazhatóak még TKI rezisztencia mutációt hordozó esetekben is. A cetuximab kezelés hatására kialakulhat rezisztencia mutáció az ektodoménen (pl. S492R), mely a cetuximab kötődését negatívan befolyásolja. Ilyen esetekben meg kell vizsgálni a panitumumab kezelés lehetőségét, melynek kötődési mechanizmusa eltérő [31, 32, 33, 34, 35, 36, 37].



7. ábra EGFR gátló antitestekre fellépő rezisztencia mechanizmusa [31]

1.2.1.2. HER2 (*ErbB2*, *NEU*)

A HER2 amplifikációja és overexpressziója jól ismert biomarker az emlőrák cézott terápiájához, de szerepét kimutatták petefészek-, gyomor-, nyálmirigy- és nem-kissejtes tüdőrákban (NSCLC) is.

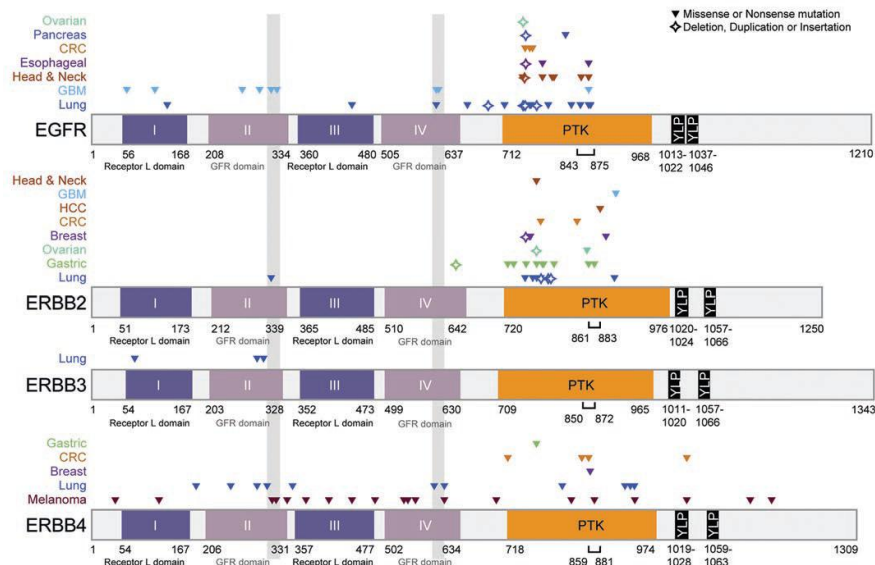
HER2 gátlására két monoklonális antitestet fejlesztettek ki. A trastuzumab (Herceptin®) az extracelluláris rész IV. doménjéhez kötődik és gátolja a jel továbbítását. HER2-t expresszáló (HER2+) korai vagy metasztatikus mellrákra törzskönyvezték. A trastuzumab hatását lehet fokozni konjugált citotoxikus szerrel pl. entamsine-nal (trastuzumab-DM1), mely a tumorsejtbe bejutva a mikrotubulusok ellen hat. A konjugátum terápiás hatását HER2+ mellrákban fázis III vizsgálatában már kimutatták. A pertuzumab (Perjeta™) az extracelluláris rész II. doménjéhez kötődve megakadályozza a HER2 kapcsolódását más családtagokkal. A trastuzumab csak az EGFR-HER2 és HER2-HER4 jelátvitelt gátolja, a pertuzumab viszont a HER2-HER3 kapcsolódását is. Ez utóbbi dimer képes a legerősebben aktiválni a túlélés szempontjából fontos PI3K-AKT utat. A két antitest kombinációja ezért molekuláris biológiai szempontból előnyös, amit fázis 2 vizsgálatban is bebizonyítottak, sőt in silico azt is megfigyelték, hogy kötődésük a HER2-höz kooperatív, ami növeli a terápiás előnyt [2, 41, 42, 43].

A lapatinib (Tyverb®) kis molekulájú reverzibilis kettős EGFR/HER2 gátlót szintén alkalmazzák HER2+ betegek kezelésre. A lapatinib képes gátolni az aktiváló mutációt tartalmazó HER2-t is; ezek közül a V777L és H878Y pontmutációk és az inzerációs mutációk lapatinibra érzékenyítőnek bizonyultak. Lapatinib kezelés hatására kiszelektálódhatnak rezisztens mutációk is (pl. L755S), melyekre az újgenerációs irreverzibilis inhibitorok pl. AEE788 hatékonyak lehetnek [44,45, 46].

1.2.1.3. HER4 (*ErbB4*)

A HER4 funkciója az onkogenezisben még nem teljesen tisztázott. Szomatikus mutációi között találunk konstitutívan aktív driver mutációkat, melyek főként melanómában fordulnak elő és lapatinibre a vad típushoz képest érzékenyítőek, de egyes sejtvonalakban előfordulnak passenger és funkcióvesztéses mutációk is [47, 48, 49, 50]. A lapatinib fázis II vizsgálata HER4 mutáns melanómában most zajlik.

Az ErbB család szomatikus mutációnak hely és szövet szerinti előfordulását a 8. ábra mutatja. Az ábrából egyértelműen látszik, hogy a tirozin-kináz doménben van leggyakrabban mutáció.



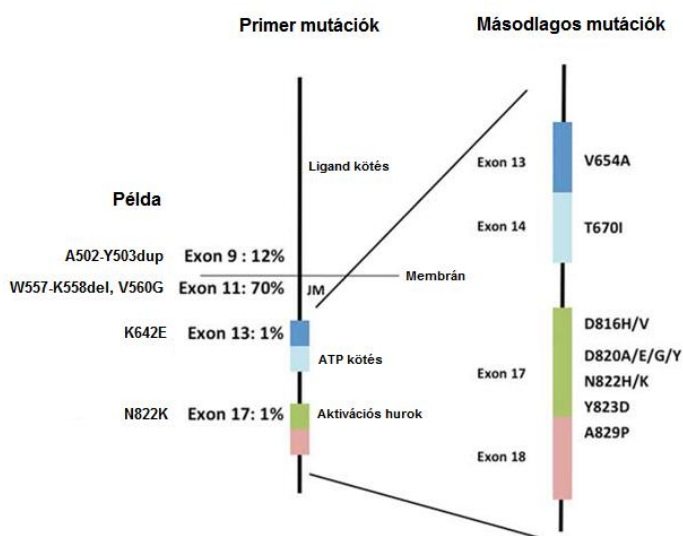
8. ábra Az ErbB család és szomatikus mutációi [49]

PTK: protein tirozin-kináz domén; Lung: tüdőrák; Ovarian: petefészekrák, Pancreas: hasnyálmirigyrák; CRC: vastagbélrák; Esophageal: nyelőcsőrák; Head & Neck: fej-nyaki daganat; GBM: glioblastoma; HCC: májtumor; Gastric: gyomorrák; Breast: mellrák

1.2.2. c-KIT, PDGFRA és FLT3

A c-KIT (össejt/hízósejt növekedési faktor receptor, CD117) sejtfelszíni receptor ligandja az SCF (össejt faktor), mely a RAS/MAPK, PI3K/AKT és JAK/STAT (Janus-kináz/transzkripció szignáltranszducer- és -aktivációs proteinje) útvonalakat képes aktiválni, de transzkripció faktorokon keresztül a MET expresszióját is szabályozza. Szerepet játszik a sejt túlélés és proliferáció szabályozásában, a hematopoézisben, az őssejtek fenntartásában, gametogenezisben és a hízósejtek fejlődésében. Gasztrointesztinális stromális tumor (GIST) 85% -ban KIT és 5% -ban PDGFR aktiváló mutációk mutathatók ki valamint a diagnózis szempontjából fontos expressziójuk is mérhető. A KIT szerepet játszik a GIST kiinduló sejtjének, az intersticiális Cajal-sejteknek a proliferációjában és differenciációjában. Szomatikus mutációi többek között még melanómában mutatták. Törzskönyvezett célzott gyógyszere az imatinib mezilátot (Glivec®), melynek indikációja KIT+ nem rezekabilis és/vagy metasztatikus GIST. Az imatinib érzékenység erősen függ a mutáció helyétől, primer

rezisztencia is felléphet. Hotspot mutációk a 9-es és 11-es exonon fordulnak elő. A kezelés során már az első 6 hét után kialakulhat másodlagos imatinib rezisztens mutáció a 13., 14., 17. és 18. exonon, megakadályozva az imatinib kötődését (9. ábra). A másodvonalis szerként használatos sunitinib (Sutent®) a csak 13. és 14. exon rezisztencia mutánsok esetében hatásos. A dasatinib (Sprycel®) és nilotinib (Tasigna®) gátolja az imatinib és sunitinib rezisztens mutánsokat is, ezért számos klinikai vizsgálat zajlik ezekkel a hatóanyagokkal is [2, 51, 52, 53, 54, 55, 56].



9. ábra KIT mutációk és gyakoriságuk GIST-ben [54] (JM: juxtamembrán domén)

PDGFRA (vérlemezske eredetű növekedési faktor receptor α) proliferációban és a kemotaxisban játszik szerepe. A KIT-tel homológ szerkezetű és funkciójú tirozin-kináz receptor, ezért aktiváló mutációk kölcsönösen kizárják egymást és tirozin-kináz inhibitorokra érzékenyítő vagy rezisztenciát okozó mutációi is analógok a KIT mutációkkal. Preklinikai és klinika vizsgálatok igazolják, hogy mutánsainak gátlásra a multikináz inhibitorok, pl. a sunitinib, sorafenib (Nexavar®), pazopanib (Votrient®) alkalmasak lehetnek [57,58, 59].

FLT3 (Fms szerű tirozin-kináz 3) egy citokin tirozin-kináz receptor, amely a hematopoézisben játszik szerepet, és az EGFR-hez hasonlóan a RAS/MEK, PI3K/AKT és STAT downstream útvonalakat aktiválhatja. Leggyakoribb mutációja az FLT3-ITD, mely juxtamembrán domén különböző méretű és elhelyezkedésű ún. belső tandem duplikációi, az akut mieloid leukémia esetek egynegyedéért felelős. In vitro, in vivo valamint klinikai vizsgálatok is igazolták, hogy a sunitinib (Sutent®) gátolja az FLT3-ITD és FLT 3 tirozin-kináz domén pontmutáns kinázok aktivitását is [38, 39, 40].

1.2.3. VEGFR2

A VEGFR2 (vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor 2, KDR) az angiogenezisben játszik szerepet, úgy hogy növeli a mikrovaszkuláris permeabilitást. Szolid daganatok esetében a tápanyagszerzéshez a leggyakoribb vaszkularizációs stratégia a neoangiogenezis, amelyben az endotélsejtek osztódnak. Az endotélsejtekben a VEGF (vaszkuláris endoteliális növekedési faktor) hatására a VEGFR2 a PLC γ /PKC/RAF (foszfolipáz C- γ /protein-kináz C/RAF), a PI3K/AKT és az SRC útvonalakat aktiválja. Az angiogenezisben részt vesznek még a VEGFR1,-3, PDGFR β , FGFR1-4 és EPHB2,-4 receptorok is, ezért hatékony antiangiogenezis szerek a multikináz-inhibitorok melyek a VEGFR és PDGFR receptorokat is gátolják. Ezek közül törzskönyvezve van már a pazopanib sunitinib és sorafenib. Az utóbbi kettő in vitro hatásosnak bizonyult VEGFR2 aktiváló mutációk esetén is, de alkalmazásuk nem kötődik biomarker jelenlétéhez [2,59,60,61].

1.2.4. c-MET

A c-MET (hepatocyta növekedési faktor receptor) és ligandja a HGF a daganatokban többek között a terjedésért, proliferációért, morfogeneziséért és túlélésért felelős. A MET út a legtöbb esetben overexpresszió miatt felülszabályozott, de aktiváló mutációja és amplifikációja is gyakori. A crizotinib (Xalkori®) kis molekulájú, szelektív MET gátló, melyet ALK transzlokációra törzskönyvezték. Az amplifikált MET gátlására a crizotinib pozitív preklinikai és klinikai eredményeket mutat, néhány mutáns sejtvonal esetében a crizotinib viszont nem mutatott antitumor aktivitást. Az EGFR gátlókkal szemben fellépő rezisztenciáért sok esetben a MET felelős, mivel a HER3-mal dimert képezve tudja aktiválni a túlélésért felelős PI3K/AKT utat. MET inhibitor alkalmazásával pedig az EGFR út erősödhet fel. a HER3 által mediált PI3K/AKT út gátlására az EGFR és MET inhibitor kombinációja lehet a legjobb megoldás, melyre most zajlik fázis I vizsgálat [62,63, 64,65].

1.2.5. RET

RET-nek (Ret proto-onkogén) a fő jelátviteli utakon keresztül a növekedésben és differenciációban van szerepe. A RET volt az első tirozin-kináz receptor, amelyet medulláris pajzsmirigyrákban (MTC) kimutattak. A RET öröklődő vagy szomatikus mutációja vagy transzlokáció eredményeképpen keletkező RET/PTC kimérafehérje is konstitutív aktiválást eredményez. A vandetanibot (Caprelsa®) MTC-re törzskönyvezték és biztató, hogy a

legújabb fázis 3vizsgálatok szerint a RET M918T mutáns betegek hosszabb progressziómentes túlélést mutattak a nem mutáns betegekhez képest, mely a leggyakoribb RET mutáció MTC-ben. A vandetanib esettanulmányok szerint az öröklődő RET mutánsok gátlásra is alkalmas. A V804 aminosav cseréje viszont preklinikai vizsgálatok szerint vandetanib rezisztenciát okoz, de a sunitinib ebben az esetben megfelelő gátlószernek bizonyulhat, melynek fázis 2 vizsgálata lezajlott MTC kezelésére pozitív eredménnyel. RET/PTC-t tartalmazó sejtvonalak gátlására is alkalmasnak bizonyult a vandetanib és sunitinib [66,67,68,69,70].

1.2.6. ALK

Az ALK (anaplasztikus lymphoma kináz) egy árva receptor tirozin kináz, melynek aktivációja ligand kötődésével majd homodimerizációval zajlik. A NSCLC 4-7% -ában a 2. kromoszóma rövid karjának inverziója miatt az ALK gén az EML4 (4-es típusú mikrotubulus kapcsolt fehérje-szerű) génbe transzlokálódik, aminek eredménye, hogy a képződött fúziós fehérje konstitutív ligandfüggetlen kináz aktivitással rendelkezik. Anaplasztikus nagy-sejtes limfómában az NPM (nukleofoszmin) és az ALK fúzióját írták le, ami szintén funkciónyeréssel jár. Az ALK átrendeződés kölcsönösen kizárja az EGFR és KRAS mutációkat. Neuroblastomában megfigyelték az ALK gén öröklődő és szomatikus aktiváló mutációit és amplifikációját is. A konstitutívan aktív ALK képes EGFR-hez hasonlóan felülszabályozni a proliferációhoz, túléléshez szükséges downstream útvonalakat, mint pl. a STAT3, AKT/PI3K, RAS/ERK jelutakat, így transzformálva a sejtet [28].

Az ALK/MET inhibitor crizotinib (Xalkori®, PF-02341066) gátolja EML4-ALK aktivitását. Transzlokációknál crizotinib kezelés hatására kialakulhat rezisztencia mutáció (pl. F1174L), melyek gátlására vizsgálat alatt van már két hatóanyag: NVP-TAE684 és 17-AAG [29,30].

1.3. Nem receptor tirozin-kinázok

1.3.1. ABL

Az ABL gén (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog) transzlokációja a krónikus mieloid leukémia (CML) esetek 90-95%-ban előforduló citogenetikai zavar. Ennek során a 9-es kromoszómán lévő ABL és a 22-es kromoszómán lévő BCR (töréspont klaszter régió) egy része kicserélődik és létrejön az úgynevezett Philadelphia kromoszóma (Ph). A

fúziós géntermék, a BCR/ABL aktivitása konstitutív lesz. Az imatinib mezilát (Glivec®) gátolja a BCR/ABL fúziós fehérje aktivitását. Kezelés hatására megszűnhet a kezdeti válasz, mivel imatinib rezisztens mutációk jöhetnek létre az ABL-ben. Klinikai vizsgálatok igazolták, hogy ilyen esetekben dasatinib, nilotinib lehet a megfelelő választás, de a hatás nagyan függ a mutáció helyétől [22, 23].

1.3.2. SRC

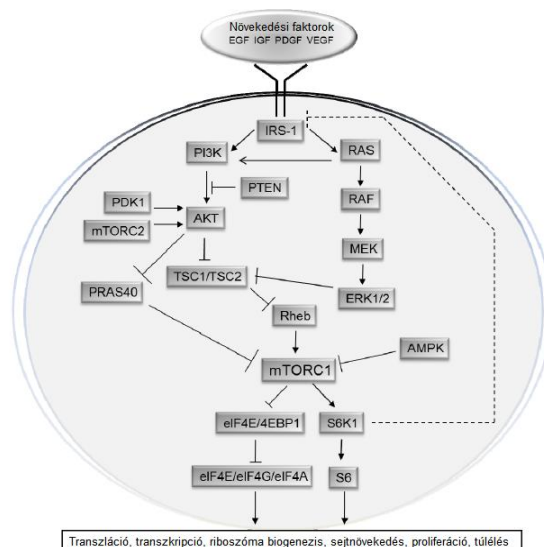
Az SRC a legelőször felfedezett retrovirális onkogén. Az SRC egyes tirozin kinázok transzaktivációján keresztül (pl. EGFR, AKT, PLC γ) befolyással van az apoptózisra, angiogenezisra, áttétképzésre és a sejtciklus szabályozására. Főleg mellrákban és vastagbélrákban igazolták onkogén szerepét. A dasatinib multi-kináz inhibitor legszenzitívebb célpontja az SRC. Preklinikai vizsgálatok igazolják a dasatinib hatásosságát az SRC aktivált sejtvonalak esetében. [97, 98].

1.4. PI3K-AKT-mTOR jelút

A PI3K-AKT-mTOR aktiválódása daganatsejt túlélését biztosítja. Az útvonal legfontosabb fehérjeje az mTOR (rapamycin emlős célpont), mely számos folyamat szabályozásáért felelős. Az mTOR két komplexben található: mTORC1 és mTORC2. Az utóbbi az AKT-ot (protein kináz B) aktiválja és a citoskeleton szabályozza. Az mTORC1a proliferációt és sejtnövekedést stimulálja a 4E-BP (eIF-4E-kötő fehérje) és az S6K (riboszóma protein S6-kináz) keresztül, melyek felelősek a transláció, transzkripció elindításáért. Ezen kívül az mTORC1 szerepet játszik a túlélésben, angiogenezisben, lipid bioszintézisben, mitokondriuk anyagcsere szabályozásában, sejtvázas szerveződésében és a riboszóma bioszintézisben. Az S6-kinázon keresztül megvalósuló negatív visszacsatolás gátolja az PIK3CA/AKT túlzott aktivitását. (lásd 10. ábra) [2, 96, 100].

Az PI3K/mTOR útvonal onkogén aktiválása létrejöhet a PI3K (foszfoinozitol-3-kináz) vagy AKT (Akt-8 retroviral oncogen) fehérjék konstitutív aktivációja vagy a PTEN (foszfatáz és tenzin homológ) szupresszor funkcióvesztése révén. A forgalomban lévő gyógyszerek közül az aktivált útvonal gátlására mTOR gátlók állnak rendelkezésre: az everolimus (Afinitor®) és temsirolimus (Torisel®). Ezek rapamycin analóg inhibitorok, melyek a mTORC1-et gátolják hatékonyan.

Az útvonal gátlásra alkalmas még a metformin, melyet neoadjuváns kemoterápiás szerként használnak, de eredetileg a 2. típusú diabétesz kezelésére találták alkalmasnak. A metformin az AMP aktivált protein-kinázt (AMPK) aktiválja mely, gátolja az mTOR aktivitását és legújabb kutatások szerint a metformin közvetlenül is gátolja az mTOR-t, ezért antiproliferatív hatással rendelkezik. Temsirolimussal kombinálva klinikai vizsgálatok most zajlanak [92, 93].



10. ábra A PI3K-AKT-mTOR jelút [100]

1.4.1. PIK3CA

PI3K (foszfatidil-inozitol-3-kináz) a receptorokról és a RAS-függő MAPK (mitogén aktivált protein kináz)-út felől érkező jelek egyik legfontosabb átkapcsoló állomása. Aktiválás esetén a p85 alegység a receptor intracelluláris doménjével lép kapcsolatba, majd dimerizálódik a p110 alegységgel. Így az aktív PI3K a PIP3 (foszfatidil-inozitol-3,4,5-trifoszfát) keletkezését indukálja, amely aktiválhatja a downstream jelátviteli fehérjéket. A p110 alegységet kódoló gén a PIK3CA, melynek aktiváló mutációi a daganatok 30%-ban előfordul. Az aktivált PIK3CA mediálta jelek gátlására rapamicin analóg mTOR gátlók lehetnek alkalmasak (everolimus, temsirolimus) [91, 94]. Mégjobb klinikai eredmények várhatóak a kettős PIK3CA/mTOR gátlóktól, mert csökkenthetik az mTORC1 gátlásából származó PI3K erősítés hatását. Az EGFR terápia fontos negatív biomarkere az aktiváló PIK3CA mutáció [2,31]. Az ösztrogén receptor pozitív mellrák kezelésére anti-ösztrogén gyógyszereket (pl. tamoxifen, letrozol) használnak, melyekre a mellrákokban igen gyakran mutáns PIK3CA rezisztenciát okoz [104].

1.4.2. PTEN

A PTEN (foszfátáz és tenzin homológ gén) egy tumorszupresszor, melynek feladata, hogy a keletkezett PIP3-at (foszfatidil inozitol-trifoszfát) visszalakítja PIP2-vé, így lassítja a PIP3 jelutat. A PTEN pontmutációja vagy deléciója inaktivációt okoz, így a PI3K/AKT út aktivitása megnő. EGFR inhibitorokra és anti-ösztrogénekre is rezisztenciát mutat a PTEN mutációt tartalmazó tumorsejt [89,95]. Ilyen esetben logikus megoldás lenne a downstream mTOR gátlása inhibitor alkalmazása, de sejtvonalas kísérletek és klinikai adatok alapján a PTEN funkcióvesztéses mutációja mTOR inhibitorokra is rezisztenciát okoz. Ennek az lehet az oka, hogy az mTOR gátlása miatt megszűnik a PI3K/AKT útvonal negatív visszacsatolása a S6 kinázon keresztül, így mégjobban erősödik az AKT útvonal [90,91].

1.5. RAS-RAF-MEK-ERK jelút

EGFR-RAS-RAF-MEK-ERK (MEK=MAPKK (mitogén-aktivált protein kináz-kináz, ERK=MAPK (mitogén-aktivált protein kináz)) jelút aktiválása a c-Myc (V-myc myelocytomatossis viral oncogene homolog) és E2F transzkripciós faktorokat kódoló gének túlműködését idézi elő. Ezek egyrészt a sejtprolifерáció és az angiogenezis erős indukálói, másrészt sejthalál kaszkádok aktiválói is. Az EGFR-RAS-RAF kaszkád felelős továbbá a sejt túlélésben szerepet játszó fehérjék aktivációjáért is (pl. AKT/PKB, PKC), melyek elnyomják a sejthalál jeleket. A jelút eredő válasza a növekedési faktorokra fiziológiás körülmények között végül a proliferáció. A RAS-RAF-MEK-ERK jelátviteli kaszkád szigorú sorrendje azzal bizonyítható, hogy az útvonal tagjai közül egynek az aktiváló mutációja kizárja a többiét (hiszen nem okozna nagyobb szelekciós előny) és hatástalanná teszi az upstream fehérje gyógyszeres gátlását [3].

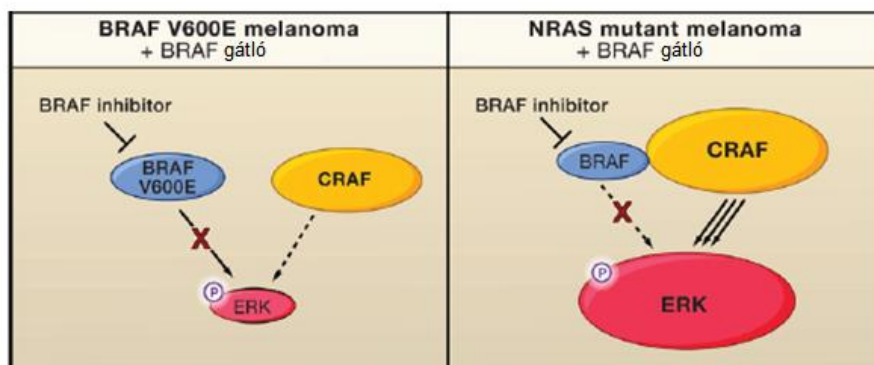
1.5.1. KRAS, HRAS és NRAS

A RAS család a kis G-fehérjékhez tartozik. A RTK-ről a Grb2 adaptor fehérje és a SOS1 (SOS kicserélődő faktor) segítségével továbbítódik a jel a RAS-ra, melynek hatására a megkötött GDP-t GTP-vé alakítja, így elsősorban a RAF/MEK, de a PI3K/AKT utakat is indukálhatja. A KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) az egyik leggyakoribb onkogén, hasnyálmirigyrákok 90%-ban mutáns, de bármely daganattípusban előfordulhat. Aktiváló mutációi 12., 13., 59. és 61. aminosavakat érintik, melynek eredménye RAS GTP

kötő konformációjának állandósága, így ligand jelenéte nélkül is aktív marad az enzim. A KRAS egyelőre indirekt gyógyszer-célpont, mivel az őket célzó gyógyszerek még fejlesztés alatt állnak és az EGFR-t célzó terápiák negatív biomarkere. Preklinikai és klinikai vizsgálatok sora igazolja, hogy KRAS aktiváló mutáció jelenlétében az EGFR-t célzó kezelések cetuximabbal, panitumumabba erlotinibbel hatástalanok lesznek, hiszen a mutáns KRAS aktiválásához nem szükséges upstream jel. Az NRAS és a HRAS szerkezetében és funkciójában homológ a KRAS-sal, szöveti előfordulásukat tekintve különböznek [79, 80, 81, 85].

1.5.2. BRAF

A BRAF (szerin-treonin kináz B-Raf) a KRAS felől a MEK-re közvetíti a jelet. Aktiváló mutációt - melyek közül a leggyakoribb a V600E- főleg melanómában és vastagbélrákban észlelték, de bármely daganattípusban előfordulhatnak. EGFR gátló alkalmazásakor gondolni kell arra, hogy a BRAF aktiváló mutációja rezisztenciát okoz [77]. Létezik már egy törzskönyvezett BRAF gátló, a vemurafenib (PLX4032, ZelborafTM), melynek indikációja V600-as mutációt hordozó irrezekábilis vagy metasztatikus melanoma malignum. A vemurafenib rendkívül szelektív a V600E mutáns BRAF gátlására a vad típushoz képest [20,21]. Ha a melanóma KRAS aktiváló mutációt tartalmaz, a MEK/ERK út képes aktiválódni a CRAF-on (szerin-treonin kináz) keresztül is, ezért ebben az esetben BRAF gátló alkalmazása hatástalan (11. ábra). Ekkor megoldás lehet duál BRAF/CRAF gátlók (pl. XL-281), vagy MEK-gátlók alkalmazása, melyek jelenleg klinikai vizsgálatban vannak [2, 76]. Vemurafenib kezeléskor is kialakulhat rezisztencia a KRAS aktiválódása miatt, de a PDGFR β overexpressziója által is. Utóbbi esetben az alternatív PI3K/AKT mediálta MAPK túlélési útvonal erősödik [78].



11. ábra BRAF és NRAS mutáns melanóma válasza BRAF gátlóra [76]

2. Célkitűzés

Célunk adatbázison alapuló döntéshozó rendszer létrehozása, amely a tumor biomarker mintázata alapján előre jelzi, hogy a molekulárisan célzott gyógyszerek közül melyek lehetnek hatásosak és melyek nem. A rendszer alapjául egy mutáció-specifikus adatbázist hozunk létre, mely a beteg tumormintájában diagnosztizált aminosav-eltéréshez gyógyszerérzékenységet társít. Erre épül az evidencia alapú döntéstámogató rendszer, amely terápiás lehetőségek közül kiválasztja a kedvezőeket vagy a hatástalanokat. TDK dolgozatomban 18 fontos rákgén mutációit és 20 törzskönyvezett gyógyszer alkalmazhatóságát vizsgálom.

3. TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™

3.1. Módszerek

TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™ (célzott gyógyszer érzékenységi adatbázis) –t arra terveztem, hogy összegyűjtsem, hogy az adott géntermékre kifejlesztett inhibitorok a vad típusú enzimhez képest az egyes mutáns változatokat kisebb vagy nagyobb mértékben gátolják, más szóval, melyek azok az aktiváló mutációk az onkogénben, amelyek egy adott gyógyszerre érzékenyítenek, vagy éppen rezisztenciát okoznak.

Az adatbázis építésének első lépése, az egyes génekhez tartozó szomatikus mutációk letöltése volt a COSMIC (Catalogue of Somatic Mutation in Cancer) adatbázisból [8]. Ez az adatbázis különböző laboratóriumok által rákos szövetekből és sejtvonalakból szekvenált gének szekvenciáit hasonlítja össze. Az ftp://ftp.sanger.ac.uk/pub/CGP/cosmic/data_export szerverről minden gén esetében letöltöttem a csv fájlokat, ami az egyes tumor mintához hozzárendeli a benne talált aminosav és nukleotid változást a szöveti és hisztológiai típust, a tumort vizsgáló tanulmány Pubmed ID-t valamint egyéb jellemzőket is. Adatbázisomhoz az aminosav változásokra és gyakoriságukra volt szükség, ezért a csv fájlokat a könnyű kezelhetőség érdekében a TIBCO Spotfire® adatbáziskezelő programba töltöttem be. Szűréssel egy új Excel fájlba vittem át az Amino Acid oszlopot, majd a program segítségével generált Count(Amino Acid) oszlopot, ami kiírja a mutációk darabszámát. A mutációkat gyakoriság szerinti csökkenő sorrendbe rendeztem.

Néhány gén esetében rezisztencia mutációk is kialakulhatnak, melyek általában gyógyszerkezelés hatására, mint másodlagos mutációk jönnek létre. Ilyen pl. az EGFR esetében a T790M rezisztencia mutáció. Ezen kettős mutánsok gyógyszer-érzékenységi adatait is bevitettem az adatbázisba. Az irodalmi kutatás során olyan egyszeres mutánsokat is találtam, amelyek nem szerepeltek a COSMIC adatbázisban. Ezért ezekhez az adatokhoz előfordulási gyakoriságot nem tudtam társítani.

Az evidencia alapú adatbázis felépítéséhez a PubMed és a Google Scholar keresőjét használtam. Az egyes génekhez irodalomkutatás alapján választottam ki a kapcsolódó célzott gyógyszereket (1. táblázat).

1. táblázat

ABL	imatinib, nilotini, dasatinib	KRAS	erlotinib, cetuximab, panitumumab
ALK	crizotinib	MET	crizotinib
BRAF	vemurafenib	NRAS	cetuximab, panitumumab
EGFR	gefitinib, erlotinib, cetuximab	PDGFRA	pazopanib, sunitinib, sorafenib
FLT3	sunitinib	PIK3CA	everolimus, temsirolimus, metformin, cetuximab, anti-ösztrogének
HER2	lapatinib, trastuzumab, pertuzumab	PTEN	everolimus, metformin, cetuximab, anti-ösztrogének
HER4	lapatinib	RET	vandetanib, sunitinib
HRAS	cetuximab, panitumumab	SRC	dasatinib
KIT	imatinib, sunitinib, dasatinib, nilotinib	VEGFR2	pazopanib, sorafenib, sunitinib

Minden gyógyszermolekula esetében megkerestem a vad típusú enzim és mutáns változatok biokémiai assay-ben és sejtvonalakon mért IC_{50} (nM) értékeit. Az IC_{50} (half of maximal inhibitory concentration) az az inhibitor koncentráció, amely valamely biológiai jellemző aktivitását felére csökkenti. Enzim esetében ez az enzimaktivitás 50%-ra való csökkentéséhez szükséges inhibitor koncentrációt jelenti. Kompetitív agonista gyógyszer esetében az összefüggés az inhibíciós állandó (K_i) és az IC_{50} között: $IC_{50}=K_i*(1+S/K_m)$. A sejtvonalakon mért IC_{50} adatoknak a sejtploriferáció 50%-ra való csökkentéséhez szükséges gyógyszerkoncentrációt adtam meg.

Abban az esetben, ha nem találtam számértéket, az ábrákból vagy szövegből olvastam ki, hogy az adott mutáció érzékenyítő vagy sem, a következő jelölést alkalmazva: <wt, >wt és $\approx$ wt. Ha egyértelmű rezisztenciát írtak le az adott gyógyszermolekulára, de nem volt feltüntetve számérték, a >wt(res) jelölést alkalmaztam. Néhány esetben kizárólag klinikai adatot találtam, azaz azt, hogy egy adott páciens milyen mértékben reagált a célzott kezelésre rákos szövetében az adott mutációt hordozva. Ekkor CR (teljes remisszió), PR (részleges remisszió), MR (kismértékű válasz), SD (stabil betegség), PD (betegség előrehaladása) és NR (nincs válasz) jelöléseket alkalmaztam a közleményben használt jelölések szerint. Ha csupán szöveges kapcsolatot találtam a mutáció és gyógyszerérzékenysége között preklinikai vagy klinikai szinten és más besorolás nem volt alkalmazható a P (=pozitív) vagy N (=jelöléseket) alkalmaztam.

A mutánsok IC_{50} értékeit kapott a vad típus IC_{50} értékével és a maximális plazmakoncentrációval (C_{max}) hasonlítottam össze. A C_{max} -ot a törzskönyvezett napi dózis

alapján állapítottam meg a gyógyszer fázis 1 vizsgálatából, majd átszámoltam nM dimenzóra. Azt feltételeztem, hogy az a mutáns rezisztens, amelyre a gyógyszer IC_{50} értéke túllépi a maximális plazmakoncentrációt. A 2. táblázat tartalmazza az általam felépített empirikus osztályozási rendszert, amely irányadó lehet az egyes gyógyszerek alkalmazásához.

2. táblázat

Mutáció hatása a gyógyszerzékenységre	Sejtvonalas vagy enzimes adatok alapján		Klinikai adatok alapján	Kapcsolat
Érzékenyítő	$IC_{50}(mut) \leq 0,9 * IC_{50}(wt)$	<wt	CR, PR	P
Vad típussal egyező	$0,9 * IC_{50}(wt) < IC_{50}(mut) \leq 1,1 * IC_{50}(wt)$	$\approx wt$	MR, SD	
Vad típushoz képest kevésbé érzékeny	$1,1 * IC_{50}(wt) < IC_{50}(mut) \leq C_{max}$	>wt		
Rezisztenciát okozó	$C_{max} < IC_{50}(mut)$	>wt(res)	PD, NR	N

. Az adatbázishoz összesen 108 közleményt dolgoztam fel, melyeknek jegyzéke a 7.1-es függelékben látható. Az COSMIC adatbázisból letöltött mutációhoz tartozó adatok láthatóak az excel fájl felső részében, míg a COSMIC-ban nem szereplő egyszeres vagy dupla mutánsok a táblázat alján láthatóak. Az excel táblázatban minden adathoz hiperhivatkozásként beillesztettem a PubMed hivatkozását, így rákattintva közvetlenül elérjük az adatot tartalmazó cikket.

3.2. Eredmények

Az adatbázist 18 gén és 20 célzott gyógyszer összesen 35 féle gyógyszer-gén kapcsolót tartalmazza, melynek felépítéséhez 108 közleményt használtam fel. Az adatbázis a diagnosztika@kps.hu e-mail címen igényelhető.

Példaként a dolgozatban az EGFR és KIT adatbázisának egy részlete látható (**Hiba! A hivatkozási forrás nem található.** és **Hiba! A hivatkozási forrás nem található.**).

		Hatóanyag	gefitinib		erlotinib		cetuximab	
		Napi dózis	250 mg		150 mg		400 mg/m2	
		M (ng/nmol)	446,9		393,4		145781,6	
		Cmax (ng/ml)	85		1055		205000	
		Cmax (nmol/l)	190,20		2681,75		1406,21	
mutáció	/55112 COSMIC mintából	másodlagos mutáció	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)
wt			157	3	110	0,56	0,25	
p.L858R	4203		5	0,8	40		3	
p.?del	2171							
p.E746_A750del	1971		8				6,7	
p.?	550							
p.T790M	459		>2000		>2000		0,62	
p.L747_P753>S	206		7		5		0,37	
p.L747_A750>P	133		7,4					
p.L747_T751del	131				<wt			
p.L861Q	120		170		103			
p.E746_S752>V	83		306					
p.G719S	71		68		16			
p.G719A	66		PD					
p.L747_S752del	66		PR					
p.S768I	60		315		250			
p.G719C	36		PR					
p.L747_T751>P	34		PR					
p.E746_T751>A	32		MR					

12. ábra Részlet az EGFR adatbázisából

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1			Hatóanyag	Imatinib		Sunitinib		Dasatinib		Nilotinib	
2			Napi dózis	400mg		50 mg		50 mg BID		400 mg BID	
3			M (ng/nmol)	446,9		398,5		488		529,5	
4			Cmax (ng/ml)	1740		26,1		37,6		1644	
5			Cmax (nmol/l)	3893,49		65,50		77,05		3104,82	
6	mutáció	/22552 COSMIC mintából	másodlagos mutáció	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)	Sejtvonal IC50 (nM)	Enzim IC50 (nM)
7	wt			3400	100	<100	40	6,12	79	210	
804		nem COSMIC									
805	p.Y503_F504insAY (502-503 dupl)		D820Y	> 5000		1486		40,6		248	
806	p.Y503_F504insAY (502-503 dupl)		N822K	> 1000		> 1000		66,2		369	
807	p.Y503_F504insAY (502-503 dupl)		V654A	3100		100		334,5		1045	
808	p.Y503_F504insAY (502-503 dupl)		D816H	4930		>1000					
809	p.Y503_F504insAY (502-503 dupl)		D820G	2640							
810	p.V559D		p.T670I	>10000		70		>10000			
811	p.V560G		p.V654A	> wt (res)						> wt (res)	
812	p.V560del		p.V654A	3927				585		192	
813	p.W557_K558del		p.T670I	>10000		50-100		>10000		>10000	
814	p.V559D		D820Y	3202				432		297	
815	p.W557_K558del		p.V654A			50-100					
816	p.V560D		p.V654A	1600		<100					
817	p.V560D		p.T670I	>5000		<100					
818	p.V560D		D816H	1990		>1000					
819	p.V560D		D820A	4000							
820	p.V560D		D820G	3255		>1000					

13. ábra Részlet a KIT adatbázisából (kettős mutánsok)

Az adatbázis preklinikai eredményeken alapul, kivéve néhány esettanulmányból származó klinikai értéket. Az adatbázis az IC₅₀ értékek összehasonlításával segít eldönteni, hogy az adott mutációt tartalmazó sejt melyik célzott gyógyszerre lehet érzékeny. Az IC₅₀ értékek különböző laboratóriumok méréseiből származnak, így az eredmények statisztikai értékelését nem találtam helyénvalónak. Ehelyett megvizsgáltam mutáns IC₅₀ értékek vad típustól és maximális plazmakoncentrációtól való eltérését, melyhez színjelöléseket alkalmaztam (lásd 2. táblázat). A maximális plazmakoncentrációval való összehasonlítás arra szolgál, hogy megállapítsuk a ténylegesen rezisztens mutánsokat, tehát azokat az eseteket, amikor a gyógyszer törzskönyv szerinti adagolása esetén nem fogunk elérni számottevő farmakológiai hatást.

Az így felépített információhalmaz hiánypótló, hiszen még nem létezik olyan adatbázis, amely a szomatikus mutációk gyógyszerérzékenységre kifejtett hatását vizsgálná [99].

Egy hasonló kezdeményezés a Genomics of Drug Sensitivity in Cancer, mely több mint 1000 sejtvonal érzékenységét vizsgálja 130 rákellenes szerre (célzott gyógyszerek és hagyományos kemoterápiás szerek) [88]. A vizsgálat során a sejttéteképességi assay-eket meghatározott protokoll szerint végezték, így az eredmények ténylegesen összehasonlíthatóak. A sejtvonalakban összesen 64 gén mutációjának jelenlétét vizsgálták és meghatározták hatását a gyógyszerérzékenységre a vad típushoz képest. A vizsgálat hátránya az, hogy az elemzést csupán két csoportra osztja, mutáns és vad típus, így az érzékenyítő és rezisztenciát okozó mutációk is egy statisztikai halmazba kerülnek. Az adatbázisnak a másik gyenge pontja az, hogy a vizsgált génekhez sok esetben nem releváns gyógyszermolekulákat társít vagy a legfontosabb gyógyszermolekulákat kihagyja a screeningből, így a témában nem jártas felhasználó hamis következtetéseket vonhat le az eredményekből.

Az általam felépített adatbázis előnye az, hogy mutáció specifikus, tehát minden eddig kimutatott mutáció esetében külön-külön prediktálja a gyógyszerérzékenységet, amennyiben létezik adat. Másik előnye, hogy már forgalomban lévő gyógyszermolekulákat vizsgál, melyeknek hatásosságát igazolták a célgénre. Az adatbázis új irodalmi adatokkal folyamatosan bővíthető. A teljes adatbázis az adott célpontokra kifejlesztett preklinikai vagy klinikai vizsgálat alatt álló összes gyógyszert tartalmazza, de TDK dolgozatomban csak a törzskönyvezett gyógyszermolekulák szerepelnek.

3.2.1. Fontos megállapítások

Eredményeimből világosan látszik, hogy a tumorban nemcsak a mutáció jelenlétét szükséges megállapítani, hanem a mutáció státuszát is, mert a különböző mutánsok eltérő érzékenységet jelenthetnek az egyes gyógyszerekre. A következőkben néhány példán keresztül mutatom be az adatbázis fontosságát:

KIT adatbázisát megvizsgálva az imatinibre, sunitinibre, nilotinibra és dasatinibra minden egyes mutáns eltérő érzékenységgel reagál. Egyik mutáns esetében a dasatinib rendelkezik a legkisebb IC_{50} értékkel, a másik mutáns esetében pedig az imatinib lehet a megfelelő terápia. A 4 gyógyszer eltérő molekulaszervezete miatt minden egyes mutáció más-más hatással van a kötődésükre. Ezzel ellentétben az EGFR minden mutációja hasonlóan viszonyul az erlotinibre és gefitinibre való érzékenységhez, ezért ha egy EGFR mutáció

esetében azt találjuk, hogy érzékeny gefitinibre, nagy valószínűséggel érzékeny lesz erlotinibre is. Adatbázisom segítségével tehát az egyes gyógyszerek mechanizmusának hasonlóságát vagy különbözőségét is megfigyelhetjük.

Adatbázisom segítségével elkerülhetjük azt, hogy a beteg olyan kezelést kapjon, ami hatástalan lesz. A klinikai vizsgálatok statisztikailag kimutatták, hogy a BCR/ABL imatinib-rezisztens mutánsok esetében a nilotinib vagy a dasatinib hatásos lehet [23,26]. Kutatásom során kiderült, hogy nem minden imatinib-rezisztens mutáns szenzitív nilotinibre és dasatinibre. A leggyakrabban előforduló T315I mutáns esetében az in vitro adatokat alátámasztják klinikai adatok is, miszerint dasatinibra és nilotinibra is rezisztens, és az E255K/V, F359C/V, Y253H mutációk is csak mérsékelt érzékenységet okoznak a nilotinib esetében [24,25].

Molekuláris biológiai szempontból furcsa, hogy preklinikai és klinikai vizsgálatok szerint az EGFR gátló erlotinib vagy cetuximab kezelés hatásos lehet a KRAS G13D mutáns esetében. A cetuximab egyik klinikai vizsgálata során a G13D mutáció esetében szignifikánsabb hosszabb progressziómentes és teljes túlélés volt tapasztalható az egyéb KRAS mutáns vagy vad típusú betegekhez képest. Egy esettanulmány arról számolt be, hogy egy kettős EGFR 19 del exon és KRAS G13D mutáns beteg esetében az erlotinib kezelésre 8 hónapig progressziómentes volt, ami azt jelenti a KRAS mutáció nem jelentett rezisztenciát a TKI kezelésre. Ez annak valószínűsíthető, hogy ez a G13D mutáns kevésbé jelent aktivitásnövekedést és az EGFR gátlás egy alternatív útvonal gátlását is jelentette. Az in vitro adatok alátámasztják a klinikai eredményeket: a G13D mutáció kevésbé transzformáló és nem inhibeálja olyan mértékben az apoptózist, mint a G12 mutánsok [82,83,84].

4. TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™

A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™ arra szolgál, hogy megállapítsa, hogy az egyes biomarkerek jelenlétében melyik célzott gyógyszer lehet hatásos és melyik nem és melyek azok a gyógyszerek melyeknek alkalmazása irreleváns. TDK dolgozatomban 18 gén és 20 célzott gyógyszer kapcsolatát állapítottam meg (1. táblázat), valamint megvizsgáltam 6 olyan esetet ahol 2 gén mutációja is jelen van. A rendszer alapját a a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™ képezi, ami preklinikai adatok alapján mutációspecifikusan becsüli meg a gyógyszerérzékenységet. A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™ egy evidencai alapú döntéshozó rendszer, amely a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™ alapján és a klinikai eredmények figyelembe vételével segít eldönteni, hogy a beteg tumorjában talált mutációk alapján melyik kezelés lehet alkalmas, melyik nem. A döntéshozó rendszerben arra törekedtem, hogy mindig a legmagasabb fokú klinikai kapcsolatot (fázis II vagy fázis III vizsgálatot) rendeljem a biomarker és gyógyszer kapcsolatához, amennyiben létezett ilyen vizsgálat. A gyógyszerek használhatóságát szervtől függetlenül vizsgáltam, kivéve az anti-ösztrogén szereket (pl tamoxifen), amelyek a mellrák kezelésére indikáltak.

4.1. Módszerek

A tumormintában diagnosztizált biomarkerhez a 20 célzott gyógyszert 4 féle csoportra osztottam a **kapcsolatuk típusa** szerint (3. táblázat). A kapcsolat típusát irodalmi kutatással határoztam meg, melyet az 4.2 Eredmények fejezetben közlök. A kapcsolat típusát módosíthatják egyes mutációk (pl. a rezisztencia mutációk), így minden mutáció esetében a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™ adatbázis adatát is figyelembe kell venni a gyógyszerérzékenységre vonatkozóan. Ha az analízis során, azt találjuk, hogy több gyógyszer is hatásosnak bizonyulhat, a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE™ IC₅₀ értékei alapján megbecsülhetjük, hogy ezek közül melyikre a legérzékenyebb.

Mindegyik közleményhez hozzárendeltem az **evidencia szintjét**, ami azt mondja meg, hogy az adat a gyógyszervizsgálatok melyik fázisából származik: preklinikai (biokémiai assay-k, sejtvonalas vagy xenograftos egér kísérletek), fázis 1, 2 vagy 3 vizsgálatból vagy esettanulmányokból, retrospektív vizsgálatokból származik (3. táblázat).

A biomarker és a gyógyszer **kapcsolatának szintjét** is meghatároztam, mely a közleményekben talált kísérletek számától és a tanulmány típusától függetlenül állapítja meg a kapcsolat erősségét (3. táblázat).

Az elemzést elvégeztem az olyan esetekre, ahol egyszeres vagy kétszeres mutáció fordul elő egy génen belül, illetve 6 szakirodalomban előforduló biomarker kombinációra, amely esetekben két gén is hordoz mutációt.

A felhasznált közlemények listáját, a kapcsolat szintjét és evidenciáját a 7.2 függelék tartalmazza.

4.2. Eredmények

A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZERTM felépítéséhez használt közlemények jegyzékét a 7.2. fejezet tartalmazza. A 7. táblázatban láthatjuk az analízis során megállapított kapcsolatokat a biomarker és gyógyszer között a 4. táblázat szerinti csoportosítást használva. A 7. táblázatban szereplő számok a számok a 8.2. fejezetben szereplő közlemények hivatkozásai. A felhasznált közleményhez hozzárendeltem kapcsolat szintjét és evidenciáját is. Az átlós vonallal áthúzott esetekben a kapcsolat megállapításához a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASETM adatbázis használata is szükséges, ugyanis ezekben az esetekben előfordulhat, hogy az adott génben talált mutáció/kettős mutáció megváltoztatja a az általános kapcsolatot a gén és a gyógyszer között. Az ilyen esetek legtöbbször rezisztenciát okoznak, de a KRAS egy mutánsának esetében előfordul, hogy érzékeny lesz EGFR gátlóra annak ellenére, hogy az általánosan elfogadott összefüggés szerint a KRAS aktiváló mutációi rezisztenciát okoznak EGFR gátlókra.

A táblázatból könnyedén leolvasható, hogy a gyógyszer alkalmazásához mely gének vizsgálata szükséges, azaz melyek azok a biomarkerek, melyek jelenléte indikálhatja vagy éppen kizárja a gyógyszer alkalmazását. A táblázatból látszik az is, hogy melyek azok a gyógyszerek melyek alkalmazása nem kötődik biomarker jelenlétéhez (pazopanib, sorafenib, sunitinib), és melyek azok a gyógyszerek kizárólag biomarker jelenlétében hatásosak, vagy hatástalanok.

3. táblázat

Biomarker és gyógyszer kapcsolatának típusa	Evidencia szintje	Kapcsolat szintje
Pozitív - A biomarker jelenlétében a célzott gyógyszer hatásos lehet.	Törzskönyvezett – R – A biomarkert tartalmazza a törzskönyvi előírás	Magas- H – Erős a kapcsolat a gyógyszer hatásossága és a biomarker jelenléte között. Például 0-10%-ban reagál, ha nincs jelen a biomarker, és 50-100%-ban ha jelen van, függetlenül az esetek számától és a tanulmány típusától
Negatív - A biomarker jelenléte miatt a célzott gyógyszer hatástalan lesz.	Klinikai I – CI – Fázis II-III vizsgálatból származó evidencia	Közepes – M – Tisztázott kapcsolat van a biomarker és a gyógyszer hatásossága között, de vannak kivételes esetek
Semleges – A biomarker jelenléte nincs kapcsolatban a gyógyszer hatásosságával, és gyógyszer hatásos lehet más biomarkerek jelenlététől függetlenül	Klinikai II – CII – Fázis 1, egyéb csoportos vagy csoportos retrospektív vizsgálatból származó evidencia	Alacsony – L – A kapcsolat nagyon csekély, még ha statisztikailag szignifikáns is a nagyszámú vizsgálatok alapján
Irreleváns – A talált biomarker és a célzott gyógyszer között nincs kapcsolat, mivel a célzott gyógyszer alkalmazása egy másik biomarker jelenlétéhez kötött.	Klinikai III – CIII – Esettanulmány	„+” vagy „-” , a pozitív vagy negatív kapcsolatot jelöli
	Preklinikai – PC – Preklinikai (biokémiai, molekuláris biológiai, állatkísérletek) kísérletről származó evidencia	

4. táblázat (a számok a 7.2. fejezet hivatkozásai; HER2+: HER2 óverexpresszió)

mutáció vagy transzlokáció	ABL	ALK	BRAF	EGFR	FLT3	HER2	HER4	HRAS	KIT	KRAS	MET	NRAS	PDGFRα	PIK3CA	PTEN	RET	SRC	VEGFR2	PIK3CA	PIK3CA	PTEN	PTEN	PIK3CA	PTEN	
																			KRAS	BRAF	KRAS	BRAF	HER2+	HER2+	
anti-oestrogens															37	38							37	38	
cetuximab			4	15				6		2		8			36	36				36	36	36	36	36	36
crizotinib		12									29														
dasatinib	10								23									42							
erlotinib				13						3										3		3			
everolimus														35	32					43	43	43	43	35	32
gefitinib				14																					
imatinib	9									21															
lapatinib						17	20																44	47	
metformin														34	34					43	43	43	43	34	34
nilotinib	11									24															
panitumumab			4					7		1		7								1	4	1	4		
pazopanib	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	25	41	41	41	41	25	41	41	41	41	41	41	41
pertuzumab						19																			
sorafenib	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	26	39	39	39	39	28	39	39	39	39	39	39	
sunitinib	40	40	40	40	16	40	40	40	22	40	40	40	27	40	40	31	40	28	40	40	40	40	40	40	
temsirolimus														33						43	43	43	43	33	
trastuzumab						18																	45	46	
vandetanib																30									
vemurafenib			5																	48		48			

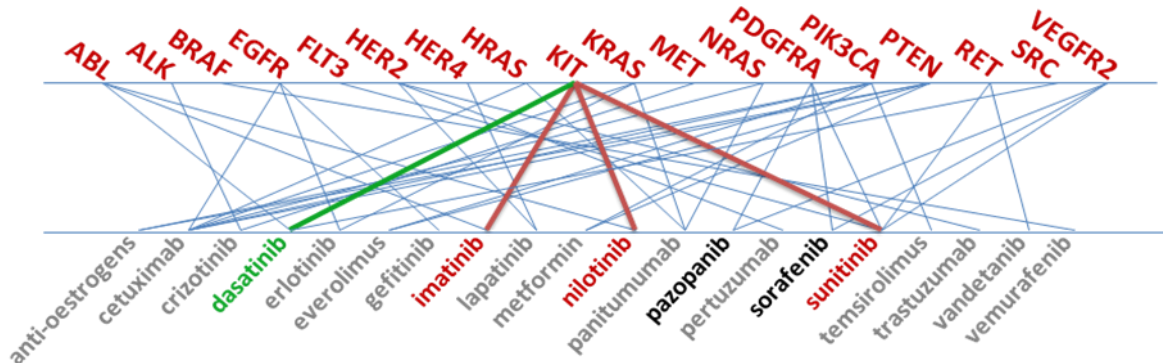
biomarker és gyógyszer kapcsolata:

	: pozitív		: pozitív, de előfordulnak rezisztenciát okozó mutációk (lásd: Targeted Drug Sensitivity Database)
	: negatív		: negatív, de előfordul olyan mutáció, amely nem okoz rezisztenciát (lásd: Targeted Drug Sensitivity Database)
	: semleges		: nincs kapcsolat

A döntéshozó rendszer alkalmazhatóságát néhány példán keresztül mutatom be:

1. példa

KIT D816V mutáns beteg



Pozitív biomarkere: dasatinib [PC, +H]

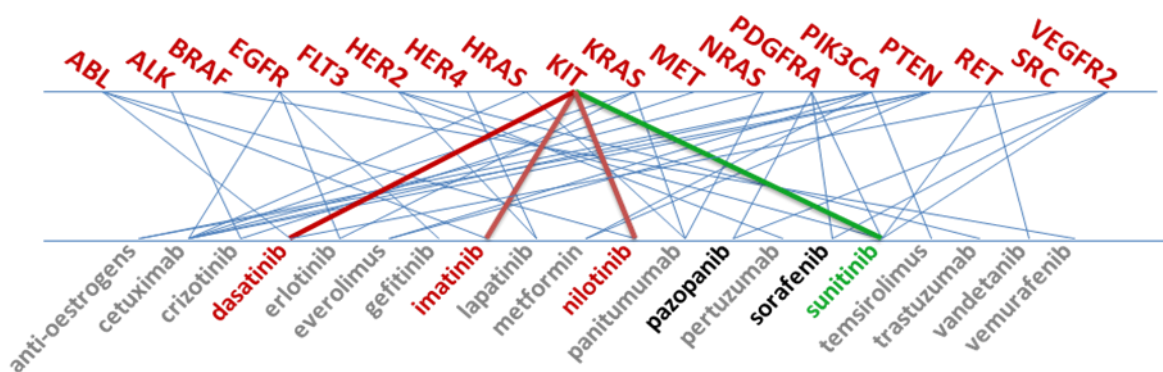
Negatív biomarkere: imatinib [PC, -H], sunitinib [PC, -H], nilotinib [PC, -H]

Hatásos lehet: pazopanib [CI, +H], sorafenib [CI, +H] (VEGFR, PDGFR gátlók)

Nem hozható kapcsolatba, mivel erősen biomarker függők: az összes többi

2. példa

KIT W557_K558del/T670I mutáns beteg



Pozitív biomarkere: sunitinib [PC, +H]

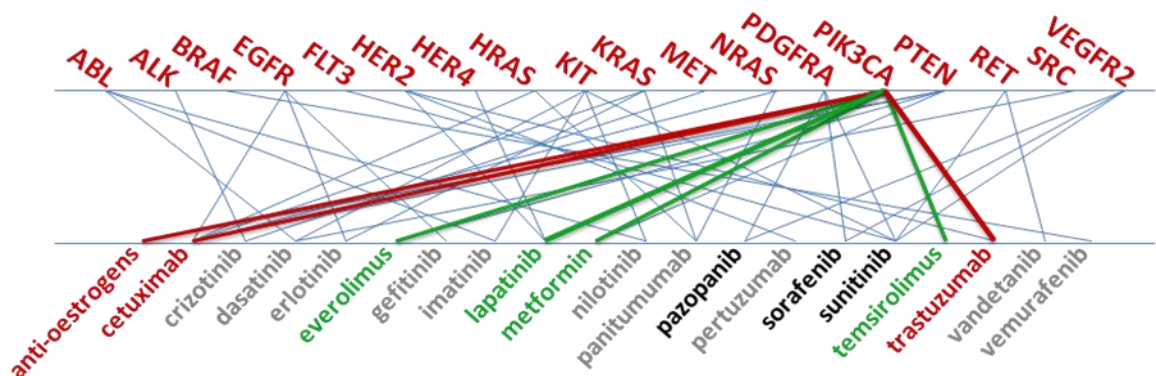
Negatív biomarkere: imatinib [PC, -H], dasatinib [PC, -H], nilotinib [PC, -H]

Hatásos lehet: pazopanib [CI, +H], sorafenib [CI, +H] (VEGFR, PDGFR gátlók)

Nem hozható kapcsolatba: az összes többi

3. példa

PIK3CA H1047R mutáns HER2 + mellrákos beteg



Pozitív biomarkere: lapatinib [PC, +M], everolimus [CI, +H], temsirolimus [PC, +H], metformin [CII, +H]

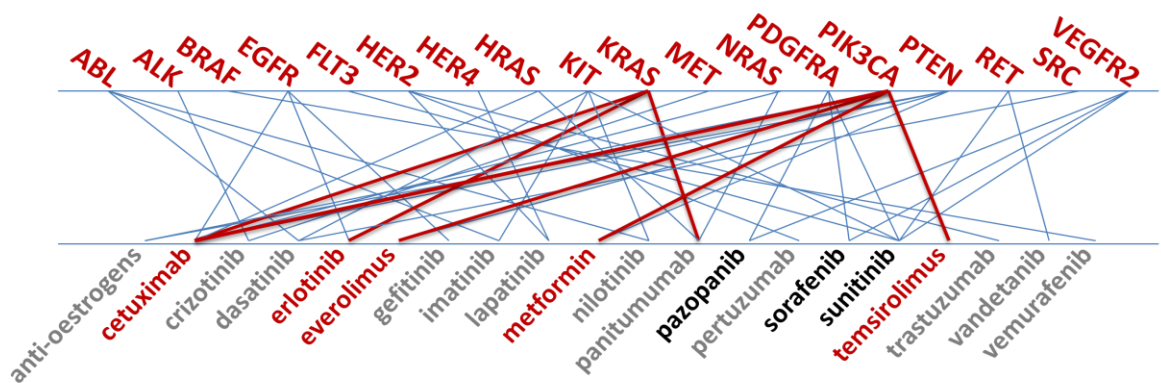
Negatív biomarkere: cetuximab [PC, -H], anti-oestrogens [CII, -L], trastuzumab [PC, -H]

Hatásos lehet: pazopanib [CI, +H], sorafenib [CI, +H], sunitinib [CI, +H] (VEGFR, PDGFR gátlók)

Nem hozható kapcsolatba: az összes többi

4. példa

PIK3CA H1047R és KRAS G21V kettős mutáns colon carcinomas beteg



Pozitív biomarkere: -

Negatív biomarkere: everolimus [PC, -H], cetuximab [PC, -H], temsirolimus, metformin

Hatásos lehet: pazopanib [CI, +H], sorafenib [CI, +H], sunitinib [CI, +H] (VEGFR, PDGFR gátlók)

Nem hozható kapcsolatba: az összes többi

Ha egy mutáció kezelésére TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™ szerint több célzott kezelés lehetséges az onkológus a mellékhatások vagy egyéb klinikai jellemzők alapján eldöntheti, melyik lehet a legmegfelelőbb a beteg számára. Előfordulhat az is, hogy a célzott kezelések közül egyik sem megfelelő az adott mutációhoz, ebben az esetben a hagyományos kemoterápiás kezelés mellett kell maradni.

4.3. Perspektívák

Terveink közé tartozik, hogy adatbázisunkat és döntéshozó rendszerünket a lehető legtöbb rákgénre és célzott gyógyszerre kiterjesszük, annak érdekében, hogy a beteg a legmegfelelőbb kezeléshez juthasson hozzá.

Kutatásom másik irányvonala a molekulamodellezésen alapuló farmakogenetikai vizsgálatok lesznek, ahol bioinformatikai eszközök segítségével *in silico* próbáljuk meghatározni a gyógyszermolekula affinitását a mutáns fehérjéhez.

Ritka mutációk esetében nem áll rendelkezésre adat a gyógyszerérzékenységre vonatkozóan. Arra nincs lehetőség, hogy az összes eddig identifikált mutáns fehérjét expresszáltassuk sejtvonalakban, és megmérjük érzékenységüket különböző gyógyszermolekulákra. A kérdés, hogy vajon meg tudjuk-e becsülni *in silico* a gyógyszerérzékenységet ezekben az esetekben? Az internetes adatbázisokból elérhető 3D fehérjestruktúrák száma egyre növekszik, beleértve a mutációval rendelkező és gyógyszermolekulával dokkolt modelleket is. Ezek elemzéséből megérthetjük a gyógyszer-fehérje kötődés mechanizmusát és a mutációk terápiás válasza kifejtett hatását is [99].

A KIT L576P pontmutánsával *in silico* végzett imatinib és dasatinib dokkolások során az imatinib esetében a mutáció jelenléte kedvezőtlen szabadenergia növekedést okozott, a dasatinib és a vad vagy mutáns forma a kötési szabad energia nagyjából megegyezik. Ennek megfelelően a sejtvonalakon végzett kísérletek is azt mutatják, hogy a dasatinib a L576P mutáns és a vad típus sejtvonalat egyforma IC₅₀ értékkel gátolja, míg imatinibre rezisztens a mutáns sejtvonal. A vizsgálat összefüggésbe hozható egy metasztatikus nyálkahártya melanomás beteggel, akiről retrospektív kiderült, hogy L576P hordozó. Az elsővonalú imatinib kezelésre nem reagált, másodvonalban pedig dasatinibbel kezelték, amely parciális remissziót eredményezett [72].

5. Összefoglalás

Mára egyértelműen bebizonyosodott, hogy a rák genetikai eredetű betegség, melyet megközelítőleg 460 gén szomatikus vagy öröklött mutációi okozhatnak. Ez új irányvonalat adott az onkológiai diagnosztikának és a daganatellenes gyógyszerek fejlesztésének. A feladat az, hogy minden egyes beteg esetében megtaláljuk a molekuláris célpontot, ami meghibásodott és a célpontnak megfelelően gyógyszeresen gátoljuk az okozott sejtműködési szabályozási zavart. A gyógyszerérzékenység vagy rezisztencia nagymértékben függ a mutáció génbeli helyétől, amely következő generációs szekvenálási technikákkal pontosan meghatározható. Az utóbbi 10 évben a célzott terápia kezdeti sikerei miatt rohamosan nőtt a molekuláris adatok halmaza és klinikai vizsgálatok száma, valamint több mint 400 új gyógyszermolekula áll klinikai fejlesztés alatt. A rákgének lehetséges mutációnak száma a Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) adatbázisban elérte az 540.000-et [8].

Célunk egy olyan döntéstámogató szoftver fejlesztése az onkológusok számára, ami a tumor biomarker profilja alapján prediktálja, hogy a kezeléshez melyik célzott gyógyszer lehet hatásos, és melyik nem. A rendszer alapját a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE képezi, amely irodalmi adatok alapján a szomatikus mutációk gyógyszerérzékenységre kifejtett hatását vizsgálja. Az adatbázis mutáns sejtvonalakon vagy enzimeken mért gyógyszerérzékenységi adatokat tartalmaz a vad típussal összehasonlítva. A felépített információhalmaz hiánypótló, hiszen hasonló adatbázis még nem létezik [99]. A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER döntéshozó rendszer klinikai evidenciákra és a TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASE-re épül. Feladata az, hogy megállapítsa a molekuláris diagnózis során talált biomarker mintázat biológiai jelentőségét, és pozitív vagy negatív kapcsolatát az egyes gyógyszermolekulák hatékonyságával. A döntéshozó rendszert jelenleg 17 proto-onkogén és 1 tumorszupresszor gén valamint 20 törzskönyvezett célzott gyógyszermolekula alkotja.

Jövőbeli tervek közé tartozik, hogy az adatbázist a lehető legtöbb onkogénre/tumorszupresszorra kiterjesztjük és bioinformatikai módszerekkel - fehérje szerkezet modellezéssel és gyógyszermolekula dokkolással - megpróbáljuk előre jelezni a gyógyszerérzékenységet azokban az esetekben is, amelyeknél még nem áll rendelkezésre kísérletes eredmény.

6. Irodalomjegyzék

- 1 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74. Review. PubMed PMID: 21376230.
- 2 Kopper L, Tímár J, Becságh P, Nagy Zs: Célzott diagnosztika és célzott terápia az onkológiában 2., Semmelweis Kiadó, Budapest 2011.
- 3 **Peták I, Houghton JA, Kopper L. Molecular Targeting of Cell Death Signal Transduction Pathways in Cancer. *Curr Signal Transduct Ther*. 2006;1(1):113-131.**
- 4 Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature*. 2001 May 17;411(6835):355-65. Review. PubMed PMID: 11357143.
- 5 Schlessinger J. Ligand-induced, receptor-mediated dimerization and activation of EGF receptor. *Cell*. 2002 Sep 20;110(6):669-72. Review. PubMed PMID: 12297041.
- 6 Gray J, Druker B. Genomics: the breast cancer landscape. *Nature*. 2012 Jun 20;486(7403):328-9. doi: 10.1038/486328a. PubMed PMID: 22722187.
- 7 Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, Van Loo P, Greenman C, Wedge DC, Nik-Zainal S, Martin S, Varela I, Bignell GR, Yates LR, Papaemmanuil E, Beare D, Butler A, Cheverton A, Gamble J, Hinton J, Jia M, Jayakumar A, Jones D, Latimer C, Lau KW, McLaren S, McBride DJ, Menzies A, Mudie L, Raine K, Rad R, Chapman MS, Teague J, Easton D, Langerød A; Oslo Breast Cancer Consortium (OSBREAC), Lee MT, Shen CY, Tee BT, Huimin BW, Brooks A, Vargas AC, Turashvili G, Martens J, Fatima A, Miron P, Chin SF, Thomas G, Boyault S, Mariani O, Lakhani SR, van de Vijver M, van 't Veer L, Foekens J, Desmedt C, Sotiriou C, Tutt A, Caldas C, Reis-Filho JS, Aparicio SA, Salomon AV, Børresen-Dale AL, Richardson AL, Campbell PJ, Futreal PA, Stratton MR. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. *Nature*. 2012 May 16;486(7403):400-4. doi: 10.1038/nature11017. PubMed PMID: 22722201; PubMed Central PMCID: PMC3428862.
- 8 <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/> (COSMIC adatbázis, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)
- 9 Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007 Mar;7(3):169-81. Review. PubMed PMID: 17318210.
- 10 Lee JC, Vivanco I, Beroukheim R, Huang JH, Feng WL, DeBiasi RM, Yoshimoto K, King JC, Nghiemphu P, Yuza Y, Xu Q, Greulich H, Thomas RK, Paez JG, Peck

- TC,Linhart DJ, Glatt KA, Getz G, Onofrio R, Ziaugra L, Levine RL, Gabriel S,Kawaguchi T, O'Neill K, Khan H, Liau LM, Nelson SF, Rao PN, Mischel P,Pieper RO,Cloughesy T, Leahy DJ, Sellers WR, Sawyers CL, Meyerson M, Mellinghoff IK. Epidermal growth factor receptor activation in glioblastoma through novel missense mutations in the extracellular domain. PLoS Med. 2006 Dec;3(12):e485. PubMed PMID: 17177598; PubMed Central PMCID: PMC1702556.
- 11 Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, Jänne PA, Kocher O, Meyerson M, Johnson BE, Eck MJ, Tenen DG, Halmos B. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med. 2005 Feb 24;352(8):786-92. PubMed PMID:15728811.
 - 12 Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, Woo MS, Greulich H, Wong KK, Meyerson M, Eck MJ. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Feb 12;105(6):2070-5. Epub 2008 Jan 28. PubMed PMID: 18227510; PubMed Central PMCID: PMC2538882.
 - 13 Li D, Ambrogio L, Shimamura T, Kubo S, Takahashi M, Chirieac LR, Padera RF, Shapiro GI, Baum A, Himmelsbach F, Rettig WJ, Meyerson M, Solca F, Greulich H, Wong KK. BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models. Oncogene. 2008 Aug 7;27(34):4702-11. Epub 2008 Apr 14. PubMed PMID: 18408761; PubMed Central PMCID: PMC2748240.
 - 14 Schwab R, Pinter F, Moldavy J, Papay J, Strausz J, Kopper L, Keri G, Pap A, Petak I, Oreskovich K, Mangel L. Modern treatment of lung cancer: case 1. Amplification and mutation of the epidermal growth factor receptor in metastatic lung cancer with remission from gefitinib. J Clin Oncol. 2005 Oct 20;23(30):7736-8. PubMed PMID: 16234532.**
 - 15 Cappuzzo F, Ardizzoni A, Soto-Parra H, Gridelli C, Maione P, Tiseo M, Calandri C, Bartolini S, Santoro A, Crinò L. Epidermal growth factor receptor targeted therapy by ZD 1839 (Iressa) in patients with brain metastases from non-small cell lung cancer (NSCLC). Lung Cancer. 2003 Aug;41(2):227-31. PubMed PMID: 12871787.
 - 16 Kopper L, Tímár J. A sejtek működésének szabályozása. In: Kopper L, Tímár J. Molekuláris onkológia. Semmelweis Kiadó, Budapest 2007: 1-90.
 - 17 Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, Carotenuto A, De Feo G, Caponigro F, Salomon DS. Epidermal growth factor receptor (EGFR)

- signaling in cancer. *Gene*. 2006 Jan 17;366(1):2-16. Epub 2005 Dec 27. Review. PubMed PMID: 16377102.
- 18 Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2010 Jun 25;141(7):1117-34. Review. PubMed PMID: 20602996; PubMed Central PMCID: PMC2914105.
 - 19 Langer CJ. The "lazarus response" in treatment-naive, poor performance status patients with non-small-cell lung cancer and epidermal growth factor receptor mutation. *J Clin Oncol*. 2009 Mar 20;27(9):1350-4. Epub 2009 Feb 17. PubMed PMID: 19224840.
 - 20 Fisher R, Larkin J. Vemurafenib: a new treatment for BRAF-V600 mutated advanced melanoma. *Cancer Manag Res*. 2012;4:243-52. Epub 2012 Aug 8. PubMed PMID: 22904646; PubMed Central PMCID: PMC3421463.
 - 21 Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M, Hogg D, Lorigan P, Lebbe C, Jouary T, Schadendorf D, Ribas A, O'Day SJ, Sosman JA, Kirkwood JM, Eggermont AM, Dreno B, Nolop K, Li J, Nelson B, Hou J, Lee RJ, Flaherty KT, McArthur GA; BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med*. 2011 Jun 30;364(26):2507-16. Epub 2011 Jun 5. PubMed PMID: 21639808.
 - 22 Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, Gorre ME, Paquette RL, Kuriyan J, Sawyers CL. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2002 Aug;2(2):117-25. PubMed PMID:12204532.
 - 23 Kantarjian HM, Giles FJ, Bhalla KN, Pinilla-Ibarz J, Larson RA, Gattermann N, Ottmann OG, Hochhaus A, Radich JP, Saglio G, Hughes TP, Martinelli G, Kim DW, Shou Y, Gallagher NJ, Blakesley R, Baccarani M, Cortes J, le Coutre PD. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results. *Blood*. 2011 Jan 27;117(4):1141-5. Epub 2010 Nov 22. PubMed PMID: 21098399.
 - 24 Soverini S, Colarossi S, Gnani A, Castagnetti F, Rosti G, Bosi C, Paolini S, Rondoni M, Piccaluga PP, Palandri F, Giannoulia P, Marzocchi G, Luatti S, Testoni N, Iacobucci I, Cilloni D, Saglio G, Baccarani M, Martinelli G. Resistance to dasatinib in Philadelphia-positive leukemia patients and the presence or the selection of

- mutations at residues 315 and 317 in the BCR-ABL kinase domain. *Haematologica*. 2007 Mar;92(3):401-4. PubMed PMID: 17339191.
- 25 Hughes T, Saglio G, Branford S, Soverini S, Kim DW, Müller MC, Martinelli G, Cortes J, Beppu L, Gottardi E, Kim D, Erben P, Shou Y, Haque A, Gallagher N, Radich J, Hochhaus A. Impact of baseline BCR-ABL mutations on response to nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 1;27(25):4204-10. Epub 2009 Aug 3. PubMed PMID: 19652056.
 - 26 Talpaz M, Shah NP, Kantarjian H, Donato N, Nicoll J, Paquette R, Cortes J, O'Brien S, Nicaise C, Bleickardt E, Blackwood-Chirchir MA, Iyer V, Chen TT, Huang F, Decillis AP, Sawyers CL. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. 2006 Jun 15;354(24):2531-41. PubMed PMID: 16775234.
 - 27 Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, Riely GJ, Gainor J, Engelman JA, Shapiro GI, Costa DB, Ou SH, Butaney M, Salgia R, Maki RG, Varella-Garcia M, Doebele RC, Bang YJ, Kulig K, Selaru P, Tang Y, Wilner KD, Kwak EL, Clark JW, Iafrate AJ, Camidge DR. 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 Oct;12(11):1004-12. Epub 2011 Sep 18. PubMed PMID: 21933749; PubMed Central PMCID: PMC3328296.
 - 28 Mossé YP, Wood A, Maris JM. Inhibition of ALK signaling for cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2009 Sep 15;15(18):5609-14. Epub 2009 Sep 8. Review. PubMed PMID: 19737948.
 - 29 Berry T, Luther W, Bhatnagar N, Jamin Y, Poon E, Sanda T, Pei D, Sharma B, Vetharoy WR, Hallsworth A, Ahmad Z, Barker K, Moreau L, Webber H, Wang W, Liu Q, Perez-Atayde A, Rodig S, Cheung NK, Raynaud F, Hallberg B, Robinson SP, Gray NS, Pearson AD, Eccles SA, Chesler L, George RE. The ALK (F1174L) mutation potentiates the oncogenic activity of MYCN in neuroblastoma. *Cancer Cell*. 2012 Jul;22(1):117-30. PubMed PMID: 22789543; PubMed Central PMCID: PMC3417812.
 - 30 Katayama R, Khan TM, Benes C, Lifshits E, Ebi H, Rivera VM, Shakespeare WC, Iafrate AJ, Engelman JA, Shaw AT. Therapeutic strategies to overcome crizotinib resistance in non-small cell lung cancers harboring the fusion oncogene EML4-ALK. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 May 3;108(18):7535-40. Epub 2011 Apr 18. PubMed PMID: 21502504; PubMed Central PMCID: PMC3088626.

- 31 Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1;28(7):1254-61. Epub 2010 Jan 25. Review. PubMed PMID: 20100961.
- 32 Mukohara T, Engelman JA, Hanna NH, Yeap BY, Kobayashi S, Lindeman N, Halmos B, Pearlberg J, Tsuchihashi Z, Cantley LC, Tenen DG, Johnson BE, Jänne PA. Differential effects of gefitinib and cetuximab on non-small-cell lung cancers bearing epidermal growth factor receptor mutations. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Aug 17;97(16):1185-94. PubMed PMID: 16106023.
- 33 Patil N, Abba M, Allgayer H. Cetuximab and biomarkers in non-small-cell lungcarcinoma. *Biologics*. 2012;6:221-31. Epub 2012 Jul 13. PubMed PMID: 22904614; PubMed Central PMCID: PMC3421478.
- 34 Khambata-Ford S, Harbison CT, Hart LL, Awad M, Xu LA, Horak CE, Dakhil S, Hermann RC, Lynch TJ, Weber MR. Analysis of potential predictive markers of cetuximab benefit in BMS099, a phase III study of cetuximab and first-line taxane/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Feb 20;28(6):918-27. Epub 2010 Jan 25. PubMed PMID: 20100958.
- 35 Montagut C, Dalmases A, Bellosillo B, Crespo M, Pairet S, Iglesias M, Salido M, Gallen M, Marsters S, Tsai SP, Minoche A, Somasekar S, Serrano S, Himmelbauer H, Bellmunt J, Rovira A, Settleman J, Bosch F, Albanell J. Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer. *Nat Med*. 2012 Jan 22;18(2):221-3. doi: 10.1038/nm.2609. PubMed PMID: 22270724.
- 36 Doody JF, Wang Y, Patel SN, Joynes C, Lee SP, Gerlak J, Rolser RL, Li Y, Steiner P, Bassi R, Hicklin DJ, Hadari YR. Inhibitory activity of cetuximab on epidermal growth factor receptor mutations in non small cell lung cancers. *Mol Cancer Ther*. 2007 Oct;6(10):2642-51. Epub 2007 Oct 3. PubMed PMID: 17913857.
- 37 Fukai J, Nishio K, Itakura T, Koizumi F. Antitumor activity of cetuximab against malignant glioma cells overexpressing EGFR deletion mutant variant III. *Cancer Sci*. 2008 Oct;99(10):2062-9. PubMed PMID: 19016767.
- 38 Fathi AT, Chabner BA. FLT3 inhibition as therapy in acute myeloid leukemia: a record of trials and tribulations. *Oncologist*. 2011;16(8):1162-74. Epub 2011 Jul 17. PubMed PMID: 21765192; PubMed Central PMCID: PMC3228152.
- 39 Chow LQ, Eckhardt SG. Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. *J Clin Oncol*. 2007 Mar 1;25(7):884-96. Review. PubMed PMID: 17327610.

- 40 O'Farrell AM, Abrams TJ, Yuen HA, Ngai TJ, Louie SG, Yee KW, Wong LM, Hong W, Lee LB, Town A, Smolich BD, Manning WC, Murray LJ, Heinrich MC, Cherrington JM. SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo. *Blood*. 2003 May 1;101(9):3597-605. Epub 2003 Jan 16. PubMed PMID:12531805.
- 41 Hurvitz SA, Kakkar R. The potential for trastuzumab emtansine in human epidermal growth factor receptor 2 positive metastatic breast cancer: latest evidence and ongoing studies. *Ther Adv Med Oncol*. 2012 Sep;4(5):235-45. PubMed PMID: 22942906; PubMed Central PMCID: PMC3424498.
- 42 Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, Staroslawska E, de la Haba-Rodriguez J, Im SA, Pedrini JL, Poirier B, Morandi P, Semiglazov V, Srimuninnimit V, Bianchi G, Szado T, Ratnayake J, Ross G, Valagussa P. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Jan;13(1):25-32. Epub 2011 Dec 6. PubMed PMID: 22153890.
- 43 Fuentes G, Scaltriti M, Baselga J, Verma CS. Synergy between trastuzumab and pertuzumab for human epidermal growth factor 2 (Her2) from colocalization: an in silico based mechanism. *Breast Cancer Res*. 2011 May 22;13(3):R54. PubMed PMID: 21600050; PubMed Central PMCID: PMC3218942.
- 44 Wang SE, Narasanna A, Perez-Torres M, Xiang B, Wu FY, Yang S, Carpenter G, Gazdar AF, Muthuswamy SK, Arteaga CL. HER2 kinase domain mutation results in constitutive phosphorylation and activation of HER2 and EGFR and resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Cell*. 2006 Jul;10(1):25-38. PubMed PMID: 16843263.
- 45 Kancha RK, von Bubnoff N, Bartosch N, Peschel C, Engh RA, Duyster J. Differential sensitivity of ERBB2 kinase domain mutations towards lapatinib. *PLoS One*. 2011;6(10):e26760. Epub 2011 Oct 28. PubMed PMID: 22046346; PubMed Central PMCID: PMC3203921.
- 46 Kaufman B, Trudeau M, Awada A, Blackwell K, Bachelot T, Salazar V, DeSilvio M, Westlund R, Zaks T, Spector N, Johnston S. Lapatinib monotherapy in patients with HER2-overexpressing relapsed or refractory inflammatory breast cancer: final results and survival of the expanded HER2+ cohort in EGF103009, a phase II study. *Lancet Oncol*. 2009 Jun;10(6):581-8. Epub 2009 Apr 24. PubMed PMID: 19394894.

- 47 Tvorogov D, Sundvall M, Kurppa K, Hollmén M, Repo S, Johnson MS, Elenius K. Somatic mutations of ErbB4: selective loss-of-function phenotype affecting signal transduction pathways in cancer. *J Biol Chem*. 2009 Feb 27;284(9):5582-91. Epub 2008 Dec 19. PubMed PMID: 19098003.
- 48 Prickett TD, Agrawal NS, Wei X, Yates KE, Lin JC, Wunderlich JR, Cronin JC, Cruz P, Rosenberg SA, Samuels Y. Analysis of the tyrosine kinome in melanoma reveals recurrent mutations in ERBB4. *Nat Genet*. 2009 Oct;41(10):1127-32. Epub 2009 Aug 30. PubMed PMID: 19718025; PubMed Central PMCID: PMC2897709.
- 49 Rudloff U, Samuels Y. A growing family: adding mutated Erbb4 as a novel cancer target. *Cell Cycle*. 2010 Apr 15;9(8):1487-503. Epub 2010 Apr 15. PubMed PMID:20404484; PubMed Central PMCID: PMC3384517.
- 50 Qiu C, Tarrant MK, Choi SH, Sathiyamurthy A, Bose R, Banjade S, Pal A, Bornmann WG, Lemmon MA, Cole PA, Leahy DJ. Mechanism of activation and inhibition of the HER4/ErbB4 kinase. *Structure*. 2008 Mar;16(3):460-7. PubMed PMID: 18334220; PubMed Central PMCID: PMC2858219.
- 51 Demetri GD, Casali PG, Blay JY, von Mehren M, Morgan JA, Bertulli R, Ray-Coquard I, Cassier P, Davey M, Borghaei H, Pink D, Debiec-Rychter M, Cheung W, Bailey SM, Veronese ML, Reichardt A, Fumagalli E, Reichardt P. A phase I study of single-agent nilotinib or in combination with imatinib in patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res*. 2009 Sep 15;15(18):5910-6. Epub 2009 Sep 1. PubMed PMID: 19723647; PubMed Central PMCID:PMC2861356.
- 52 Reichardt P, Blay JY, Gelderblom H, Schlemmer M, Demetri GD, Bui-Nguyen B, McArthur GA, Yazji S, Hsu Y, Galetic I, Rutkowski P. Phase III study of nilotinib versus best supportive care with or without a TKI in patients with gastrointestinal stromal tumors resistant to or intolerant of imatinib and sunitinib. *Ann Oncol*. 2012 Jul;23(7):1680-7. Epub 2012 Feb 21. PubMed PMID: 22357255.
- 53 Minor DR, Kashani-Sabet M, Garrido M, O'Day SJ, Hamid O, Bastian BC. Sunitinib therapy for melanoma patients with KIT mutations. *Clin Cancer Res*. 2012 Mar 1;18(5):1457-63. Epub 2012 Jan 18. PubMed PMID: 22261812.
- 54 Heinrich MC, Marino-Enriquez A, Presnell A, Donsky RS, Griffith DJ, McKinley A, Patterson J, Taguchi T, Liang CW, Fletcher JA. Sorafenib inhibits many kinase mutations associated with drug-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Mol Cancer Ther*. 2012 Aug;11(8):1770-80. Epub 2012 Jun 4. PubMed PMID: 22665524.

- 55 Schittenhelm MM, Shiraga S, Schroeder A, Corbin AS, Griffith D, Lee FY, Bokemeyer C, Deininger MW, Druker BJ, Heinrich MC. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC/ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Res.* 2006 Jan 1;66(1):473-81. PubMed PMID: 16397263.
- 56 Kluger HM, Dudek AZ, McCann C, Ritacco J, Southard N, Jilaveanu LB, Molinaro A, Sznol M. A phase 2 trial of dasatinib in advanced melanoma. *Cancer.* 2011 May 15;117(10):2202-8. doi: 10.1002/cncr.25766. Epub 2010 Nov 29. PubMed PMID: 21523734; PubMed Central PMCID: PMC3116034.
- 57 Adnane L, Trail PA, Taylor I, Wilhelm SM. Sorafenib (BAY 43-9006, Nexavar), a dual-action inhibitor that targets RAF/MEK/ERK pathway in tumor cells and tyrosine kinases VEGFR/PDGFR in tumor vasculature. *Methods Enzymol.* 2006;407:597-612. PubMed PMID: 16757355.
- 58 Najjar YG, Rini BI. Novel agents in renal carcinoma: a reality check. *Ther Adv Med Oncol.* 2012 Jul;4(4):183-94. PubMed PMID: 22754592; PubMed Central PMCID: PMC3384093.
- 59 Roskoski R Jr. Sunitinib: a VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 May 4;356(2):323-8. Epub 2007 Mar 7. PubMed PMID: 17367763.
- 60 Antonescu CR, Yoshida A, Guo T, Chang NE, Zhang L, Agaram NP, Qin LX, Brennan MF, Singer S, Maki RG. KDR activating mutations in human angiosarcomas are sensitive to specific kinase inhibitors. *Cancer Res.* 2009 Sep 15;69(18):7175-9. Epub 2009 Sep 1. PubMed PMID: 19723655; PubMed Central PMCID: PMC2763376.
- 61 Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res.* 2004 Oct 1;64(19):7099-109. PubMed PMID: 15466206.
- 62 Ou SH, Kwak EL, Siwak-Tapp C, Dy J, Bergethon K, Clark JW, Camidge DR, Solomon BJ, Maki RG, Bang YJ, Kim DW, Christensen J, Tan W, Wilner KD, Salgia R, Iafrate AJ. 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 May;6(5):942-6.
- 63 Arteaga CL. HER3 and mutant EGFR meet MET. *Nat Med*. 2007 Jun;13(6):675-7. PubMed PMID: 17554333.
 - 64 Tanizaki J, Okamoto I, Okamoto K, Takezawa K, Kuwata K, Yamaguchi H, Nakagawa K. MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) shows differential antitumor effects in non-small cell lung cancer according to MET alterations. *J Thorac Oncol*. 2011 Oct;6(10):1624-31. PubMed PMID: 21716144.
 - 65 Zou HY, Li Q, Lee JH, Arango ME, McDonnell SR, Yamazaki S, Koudriakova TB, Alton G, Cui JJ, Kung PP, Nambu MD, Los G, Bender SL, Mroczkowski B, Christensen JG. An orally available small-molecule inhibitor of c-Met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms. *Cancer Res*. 2007 May 1;67(9):4408-17. PubMed PMID: 17483355.
 - 66 Houvras Y. Completing the Arc: targeted inhibition of RET in medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2012 Jan 10;30(2):200-2. Epub 2011 Dec 12. PubMed PMID: 22162569.
 - 67 Wells SA Jr, Robinson BG, Gagel RF, Dralle H, Fagin JA, Santoro M, Baudin E, Elisei R, Jarzab B, Vasselli JR, Read J, Langmuir P, Ryan AJ, Schlumberger MJ. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial. *J Clin Oncol*. 2012 Jan 10;30(2):134-41. Epub 2011 Oct 24. PubMed PMID: 22025146.
 - 68 Ogino H, Yano S, Kakiuchi S, Yamada T, Ikuta K, Nakataki E, Goto H, Hanibuchi M, Nishioka Y, Ryan A, Sone S. Novel dual targeting strategy with vandetanib induces tumor cell apoptosis and inhibits angiogenesis in malignant pleural mesothelioma cells expressing RET oncogenic rearrangement. *Cancer Lett*. 2008 Jun 28;265(1):55-66. Epub 2008 Mar 24.
 - 69 Gramza AW, Patterson J, Peters J, Kaufman M, Wise S, Flynn D. Activity of novel RET inhibitors against RET genotypes associated with medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr 5559)
 - 70 De Souza JA, Busaidy N, Zimrin A, Seiwert TY, Villaflor VM, Poluru KB, Reddy PL, Nam J, Vokes EE, Cohen EE. Phase II trial of sunitinib in medullary thyroid cancer (MTC). *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr 5504)

- 71 Montero JC, Seoane S, Ocaña A, Pandiella A. Inhibition of SRC family kinases and receptor tyrosine kinases by dasatinib: possible combinations in solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2011 Sep 1;17(17):5546-52. Epub 2011 Jun 13. Review. PubMed PMID: 21670084.
- 72 Woodman SE, Trent JC, Stemke-Hale K, Lazar AJ, Pricl S, Pavan GM, Fermeglia M, Gopal YN, Yang D, Podoloff DA, Ivan D, Kim KB, Papadopoulos N, Hwu P, Mills GB, Davies MA. Activity of dasatinib against L576P KIT mutant melanoma: molecular, cellular, and clinical correlates. *Mol Cancer Ther*. 2009 Aug;8(8):2079-85. Epub 2009 Aug 11. PubMed PMID: 19671763; PubMed Central PMCID: PMC3346953.
- 73 D'Incecco A, Cappuzzo F. Gefitinib for non-small-cell lung cancer treatment. *Expert Opin Drug Saf*. 2011 Nov;10(6):987-96. Epub 2011 Sep 12. Review. PubMed PMID: 21905963.
- 74 Okamoto I, Araki J, Suto R, Shimada M, Nakagawa K, Fukuoka M. EGFR mutation in gefitinib-responsive small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2006;17: 1028-9.
- 75 Araki J, Okamoto I, Suto R, Ichikawa Y, Sasaki J. Efficacy of the tyrosine kinase inhibitor gefitinib in a patient with metastatic small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2005 Apr;48(1):141-4. Epub 2004 Dec 9.
- 76 Kwong LN, Chin L. The brothers RAF. *Cell*. 2010 Jan 22;140(2):180-2. PubMed PMID: 20141832.
- 77 Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 10;26(35):5705-12. Epub 2008 Nov 10. PubMed PMID: 19001320.
- 78 Shi H, Kong X, Ribas A, Lo RS. Combinatorial treatments that overcome PDGFR β -driven resistance of melanoma cells to V600E B-RAF inhibition. *Cancer Res*. 2011 Aug 1;71(15):5067-74. PubMed PMID: 21803746; PubMed Central PMCID: PMC3149831.
- 79 Zuo Q, Luo RC. Correlation between ras gene and the resistance of nasopharyngeal carcinoma to cetuximab. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2010 Jun;30(6):1415-7.
- 80 Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1;28(7):1254-61. Epub 2010 Jan 25. Review

- 81 Marc Peeters, Kelly S. Oliner, Alex Parker, Jing Huang, Salvatore Siena, Yves Humblet, Jean-Luc Van Laethem, Thierry André, Jeffrey Wizeorek, David Reese, Scott D. Patterson, Eric Van Cutsem. Use of massively parallel, next-generation sequencing to identify gene mutations beyond KRAS that predict response to panitumumab in a randomized, phase 3, monotherapy study of metastatic colorectal cancer (mCRC) LB-174 Apr 19, 2010 101th AACR
- 82 Guerrero S, Casanova I, Farré L, Mazo A, Capellà G, Mangués R. K-ras codon 12 mutation induces higher level of resistance to apoptosis and predisposition to anchorage-independent growth than codon 13 mutation or proto-oncogen overexpression. *Cancer Res.* 2000 Dec 1;60(23):6750-6. PubMed PMID: 11118062.
- 83 De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Tu D, Siena S, Lamba S, Arena S, Frattini M, Piessevaux H, Van Cutsem E, O'Callaghan CJ, Khambata-Ford S, Zalcborg JR, Simes J, Karapetis CS, Bardelli A, Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA.* 2010 Oct 27;304(16):1812-20. PubMed PMID: 20978259.
- 84 Lee CN, Chen HY, Liu HE. Favorable response to erlotinib in a lung adenocarcinoma with both epidermal growth factor receptor exon 19 deletion and K-ras G13D mutations. *J Clin Oncol.* 2010 Mar 1;28(7):e111-2. Epub 2009 Dec 14. PubMed PMID: 20008635.
- 85 Langer CJ. Roles of EGFR and KRAS Mutations in the Treatment Of Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *P T.* 2011 May;36(5):263-79. PubMed PMID: 21785539; PubMed Central PMCID: PMC3138369.
- 86 Pópulo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR Signalling Pathway in Human Cancer. *Int J Mol Sci.* 2012;13(2):1886-918. Epub 2012 Feb 10. PubMed PMID: 22408430; PubMed Central PMCID: PMC3291999.
- 87 Mohseni M, Park BH. PIK3CA and KRAS mutations predict for response to everolimus therapy: now that's RAD001. *J Clin Invest.* 2010 Aug;120(8):2655-8. doi: 10.1172/JCI44026. Epub 2010 Jul 26. PubMed PMID: 20664174; PubMed Central PMCID: PMC2912204.
- 88 The Genomics of Drug Sensitivity in Cancer Project (Wellcome Trust Sanger Institute) <http://www.cancerrxgene.org/>
- 89 Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling YH, Byun DS, Nasser S, Arango D, Shin J, Klampfer L, Augenlicht LH, Perez-Soler R, Mariadason JM. PIK3CA

- mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res.* 2008 Mar 15;68(6):1953-61. Erratum in: *Cancer Res.* 2008 Aug 15;68(16):6859. Soler, Roman Perez [corrected to Perez-Soler, Roman]. *Cancer Res.* 2009 Dec 1;69(23):9156. PubMed PMID: 18339877.
- 90 Seront E, Rottey S, Sautois B, Kerger J, D'Hondt LA, Verschaeve V, Canon JL, Dopchie C, Vandenbulcke JM, Whenham N, Goeminne JC, Clausse M, Verhoeven D, Glorieux P, Branders S, Dupont P, Schoonjans J, Feron O, Machiels JP. Phase II study of everolimus in patients with locally advanced or metastatic transitional cell carcinoma of the urothelial tract: clinical activity, molecular response, and biomarkers. *Ann Oncol.* 2012 Oct;23(10):2663-70. Epub 2012 Apr 3. PubMed PMID: 22473592.
 - 91 PIK3CA mutation, but not PTEN loss of function, determines the sensitivity of breast cancer cells to mTOR inhibitory drugs. Weigelt B, Warne PH, Downward J. *Oncogene.* 2011
 - 92 MacKenzie MJ, Ernst S, Johnson C, Winkquist E. A phase I study of temsirolimus and metformin in advanced solid tumours. *Invest New Drugs.* 2012 Apr;30(2):647-52. Epub 2010 Oct 27. PubMed PMID: 20978924.
 - 93 Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V, Goodwin PJ. Metformin in cancer: translational challenges. *J Mol Endocrinol.* 2012 Mar 29;48(3):R31-43. Print 2012. Review. PubMed PMID: 22355097.
 - 94 Janku F, Tsimberidou AM, Garrido-Laguna I, Wang X, Luthra R, Hong DS, Naing A, Falchook GS, Moroney JW, Piha-Paul SA, Wheeler JJ, Moulder SL, Fu S, Kurzrock R. PIK3CA mutations in patients with advanced cancers treated with PI3K/AKT/mTOR axis inhibitors. *Mol Cancer Ther.* 2011 Mar;10(3):558-65. Epub 2011 Jan 7. PubMed PMID: 21216929; PubMed Central PMCID: PMC3072168.
 - 95 Tanic N, Milovanovic Z, Tanic N, Dzodic R, Juranic Z, Susnjar S, Plesinac-Karapandzic V, Tatic S, Dramicanin T, Davidovic R, Dimitrijevic B. The impact of PTEN tumor suppressor gene on acquiring resistance to tamoxifen treatment in breast cancer patients. *Cancer Biol Ther.* 2012 Aug 15;13(12). [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22892847.
 - 96 LoPiccolo J, Blumenthal GM, Bernstein WB, Dennis PA. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: effective combinations and clinical considerations. *Drug*

- Resist Updat. 2008 Feb-Apr;11(1-2):32-50. Epub 2007 Dec 31. Review. PubMed PMID: 18166498; PubMed Central PMCID: PMC2442829.
- 97 Chan CM, Jing X, Pike LA, Zhou Q, Lim DJ, Sams SB, Lund GS, Sharma V, Haugen BR, Schweppe RE. Targeted inhibition of Src kinase with dasatinib blocks thyroid cancer growth and metastasis. Clin Cancer Res. 2012 Jul 1;18(13):3580-91. Epub 2012 May 14. PubMed PMID: 22586301.
- 98 Belsches-Jablonski AP, Demory ML, Parsons JT, Parsons SJ The Src pathway as a therapeutic strategy. Drug Disc Tod: Ther Strat. 2005; 2 (4):313–321.
- 99 Lahti JL, Tang GW, Capriotti E, Liu T, Altman RB. Bioinformatics and variability in drug response: a protein structural perspective. J R Soc Interface. 2012 Jul 7;9(72):1409-37.
- 100 Pópulo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR Signalling Pathway in Human Cancer. Int J Mol Sci. 2012;13(2):1886-918. Epub 2012 Feb 10. PubMed PMID: 22408430; PubMed Central PMCID: PMC3291999.
- 101 Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K, Sougnez C, Greulich H, Muzny DM, Morgan MB, Fulton L, Fulton RS, Zhang Q, Wendl MC, Lawrence MS, Larson DE, Chen K, Dooling DJ, Sabo A, Hawes AC, Shen H, Jhangiani SN, Lewis LR, Hall O, Zhu Y, Mathew T, Ren Y, Yao J, Scherer SE, Clerc K, Metcalf GA, Ng B, Milosavljevic A, Gonzalez-Garay ML, Osborne JR, Meyer R, Shi X, Tang Y, Koboldt DC, Lin L, Abbott R, Miner TL, Pohl C, Fewell G, Haipiek C, Schmidt H, Dunford-Shore BH, Kraja A, Crosby SD, Sawyer CS, Vickery T, Sander S, Robinson J, Winckler W, Baldwin J, Chirieac LR, Dutt A, Fennell T, Hanna M, Johnson BE, Onofrio RC, Thomas RK, Tonon G, Weir BA, Zhao X, Ziaugra L, Zody MC, Giordano T, Orringer MB, Roth JA, Spitz MR, Wistuba II, Ozenberger B, Good PJ, Chang AC, Beer DG, Watson MA, Ladanyi M, Broderick S, Yoshizawa A, Travis WD, Pao W, Province MA, Weinstock GM, Varmus HE, Gabriel SB, Lander ES, Gibbs RA, Meyerson M, Wilson RK. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. Nature. 2008 Oct 23;455(7216):1069-75. PubMed PMID: 18948947; PubMed Central PMCID: PMC2694412.
- 102 Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. Nat Rev Cancer. 2005 Apr;5(4):275-84. Review. PubMed PMID: 15803154.
- 103 Peták I, Schwab R, Orfi L, Kopper L, Kéri G. Integrating molecular diagnostics into anticancer drug discovery. Nat Rev Drug Discov. 2010 Jul;9(7):523-35. Epub 2010 Jun 7.**

104 Miller TW, Balko JM, Arteaga CL. Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Nov 20;29(33):4452-61. Epub 2011 Oct 17. Review. PubMed PMID: 22010023; PubMed Central PMCID: PMC3221526.

7. Függelék

7.1. TARGETED DRUG SENSITIVITY DATABASETM-hez felhasznált közlemények jegyzéke

ABL

Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, Gorre ME, Paquette RL, Kuriyan J, Sawyers CL. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2002 Aug;2(2):117-25. PubMed PMID:12204532.

Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW, Hochhaus A, Griffin JD. Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2007 May;7(5):345-56. Review. PubMed PMID: 17457302.

von Bubnoff N, Veach DR, Miller WT, Li W, Sängers J, Peschel C, Bornmann WG, Clarkson B, Duyster J. Inhibition of wild-type and mutant Bcr-Abl by pyrido-pyrimidine-type small molecule kinase inhibitors. *Cancer Res*. 2003 Oct 1;63(19):6395-404. PubMed PMID: 14559829.

Redaelli S, Piazza R, Rostagno R, Magistrini V, Perini P, Marega M, Gambacorti-Passerini C, Boschelli F. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 20;27(3):469-71. Epub 2008 Dec 15. PubMed PMID: 19075254.

ALK

Zhang S, Wang F, Keats J, Ning Y, Wardwell SD, Moran L, Mohemmad QK, Ye E, Anjum R, Wang Y, Zhu X, Miret JJ, Dalgarno D, Narasimhan NI, Clackson T, Shakespeare WC, Rivera VM. AP26113, a potent ALK inhibitor, overcomes mutations in EML4-ALK that confer resistance to PF-02341066. *Proc Am Assoc Cancer Res*. 2010;51 Abstract LB-298.

Zhang S, Wang F, Keats J, Zhu X, Ning Y, Wardwell SD, Moran L, Mohemmad QK, Anjum R, Wang Y, Narasimhan NI, Dalgarno D, Shakespeare WC, Miret JJ, Clackson T, Rivera VM. Crizotinib-resistant mutants of EML4-ALK identified through an accelerated mutagenesis screen. *Chem Biol Drug Des*. 2011 Dec;78(6):999-1005. doi: 10.1111/j.1747-0285.2011.01239.x. Epub 2011 Oct 31. PubMed PMID: 22034911; PubMed Central PMCID: PMC3265718.

Lovly CM, Heuckmann JM, de Stanchina E, Chen H, Thomas RK, Liang C, Pao W. Insights into ALK-driven cancers revealed through development of novel ALK tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Res*. 2011 Jul 15;71(14):4920-31. Epub 2011 May 25. PubMed PMID: 21613408; PubMed Central PMCID: PMC3138877.

Bresler SC, Wood AC, Haglund EA, Courtwright J, Belcastro LT, Plegaria JS, Cole K, Toporovskaya Y, Zhao H, Carpenter EL, Christensen JG, Maris JM, Lemmon MA, Mossé YP. Differential inhibitor sensitivity of anaplastic lymphoma kinase variants found in neuroblastoma. *Sci Transl Med*. 2011 Nov 9;3(108):108ra114. PubMed PMID: 22072639; PubMed Central PMCID: PMC3319004.

Katayama R, Khan TM, Benes C, Lifshits E, Ebi H, Rivera VM, Shakespeare WC, Iafrate AJ, Engelman JA, Shaw AT. Therapeutic strategies to overcome crizotinib resistance in non-small cell lung cancers harboring the fusion oncogene EML4-ALK. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 May 3;108(18):7535-40. Epub 2011 Apr 18. PubMed PMID: 21502504; PubMed Central PMCID: PMC3088626.

Sakamoto H, Tsukaguchi T, Hiroshima S, Kodama T, Kobayashi T, Fukami TA, Oikawa N, Tsukuda T, Ishii N, Aoki Y. CH5424802, a selective ALK inhibitor capable of blocking the resistant gatekeeper mutant. *Cancer Cell*. 2011 May 17;19(5):679-90. PubMed PMID: 21575866.

Doebele RC, Pilling AB, Aisner DL, Kutateladze TG, Le AT, Weickhardt AJ, Kondo KL, Linderman DJ, Heasley LE, Franklin WA, Varella-Garcia M, Camidge DR. Mechanisms of resistance to crizotinib in patients with ALK gene rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012 Mar 1;18(5):1472-82. Epub 2012 Jan 10. PubMed PMID: 22235099; PubMed Central PMCID: PMC3311875.

Heuckmann JM, Hölzel M, Sos ML, Heynck S, Balke-Want H, Koker M, Peifer M, Weiss J, Lovly CM, Grütter C, Rauh D, Pao W, Thomas RK. ALK mutations conferring differential resistance to structurally diverse ALK inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2011 Dec 1;17(23):7394-401. Epub 2011 Sep 26. PubMed PMID: 21948233; PubMed Central PMCID: PMC3382103.

BRAF

Zelboraf Product Monograph

<http://www.rochecanada.com/fmfiles/re7234008/Research/ClinicalTrialsForms/Products/ConsumerInformation/MonographsandPublicAdvisories/Zelboraf/zalborafSIE.pdf>

Yang H, Higgins B, Kolinsky K, Packman K, Bradley WD, Lee RJ, Schostack K, Simcox ME, Kopetz S, Heimbroad D, Lestini B, Bollag G, Su F. Antitumor activity of BRAF inhibitor vemurafenib in preclinical models of BRAF-mutant colorectal cancer. *Cancer Res*. 2012 Feb 1;72(3):779-89. Epub 2011 Dec 16. PubMed PMID: 22180495.

Yang H, Higgins B, Kolinsky K, Packman K, Go Z, Iyer R, Kolis S, Zhao S, Lee R, Grippo JF, Schostack K, Simcox ME, Heimbroad D, Bollag G, Su F. RG7204 (PLX4032), a selective BRAFV600E inhibitor, displays potent antitumor activity in preclinical melanoma models. *Cancer Res*. 2010 Jul 1;70(13):5518-27. Epub 2010 Jun 15. Erratum in: *Cancer Res*. 2010 Nov 15;70(22):9527. PubMed PMID: 20551065.

Pharmacology and toxicology NDA review and evaluation of Zelboraf

http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/202429Orig1s000PharmR.pdf

KRAS, HRAS, NRAS

Garassino MC, Marabese M, Rusconi P, Rulli E, Martelli O, Farina G, Scanni A, Brogini M. Different types of K-Ras mutations could affect drug sensitivity and tumour behaviour in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2011 Jan;22(1):235-7. PubMed PMID: 21169473.

Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, Zakowski MF, Heelan RT, Kris MG, Varmus HE. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinoma to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med*. 2005 Jan;2(1):e17. Epub 2005 Jan 25. PubMed PMID: 15696205; PubMed Central PMCID: PMC545207.

Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, Côté JF, Tomasic G, Penna C, Ducreux M, Rougier P, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*. 2006 Apr 15;66(8):3992-5. PubMed PMID: 16618717.

Kasper S, Breitenbuecher F, Reis H, Brandau S, Worm K, Köhler J, Paul A, Trarbach T, Schmid KW, Schuler M. Oncogenic RAS simultaneously protects against anti-EGFR antibody-dependent cellular cytotoxicity and EGFR signaling blockade. *Oncogene*. 2012 Jul 16. doi: 10.1038/onc.2012.302. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22797062.

Lee CN, Chen HY, Liu HE. Favorable response to erlotinib in a lung adenocarcinoma with both epidermal growth factor receptor exon 19 deletion and K-ras G13D mutations. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1;28(7):e111-2. Epub 2009 Dec 14. PubMed PMID: 20008635.

De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Tu D, Siena S, Lamba S, Arena S, Frattini M, Piessevaux H, Van Cutsem E, O'Callaghan CJ, Khambata-Ford S, Zalberg JR, Simes J, Karapetis CS, Bardelli A, Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA*. 2010 Oct 27;304(16):1812-20. PubMed PMID: 20978259.

Tejpar S, Celik I, Schlichting M, Sartorius U, Bokemeyer C, Van Cutsem E. Association of KRAS G13D Tumor Mutations With Outcome in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With First-Line Chemotherapy With or Without Cetuximab. *J Clin Oncol*. 2012 Jun 25. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22734028.

Peeters M, Douillard J-Y, Cutsem E, Siena S, Zhang K, Williams RT, Wizeorek JS Mutant (MT) KRAS codon 12 and 13 alleles in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Assessment as prognostic and predictive biomarkers of response to panitumumab (pmab). *J Clin Oncol* 30, 2012 (suppl 4; abstr 383).

EGFR

Li D, Ambrogio L, Shimamura T, Kubo S, Takahashi M, Chirieac LR, Padera RF, Shapiro GI, Baum A, Himmelsbach F, Rettig WJ, Meyerson M, Solca F, Greulich H, Wong KK. BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models. *Oncogene*. 2008 Aug 7;27(34):4702-11. Epub 2008 Apr 14. PubMed PMID: 18408761; PubMed Central PMCID: PMC2748240.

Engelman JA, Zejnullahu K, Gale CM, Lifshits E, Gonzales AJ, Shimamura T, Zhao F, Vincent PW, Naumov GN, Bradner JE, Althaus IW, Gandhi L, Shapiro GI, Nelson JM, Heymach JV, Meyerson M, Wong KK, Jänne PA. PF00299804, an irreversible pan-ERBB inhibitor, is effective in lung cancer models with EGFR and ERBB2 mutations that are resistant to gefitinib. *Cancer Res*. 2007 Dec 15;67(24):11924-32. PubMed PMID: 18089823.

Doody JF, Wang Y, Patel SN, Joynes C, Lee SP, Gerlak J, Rolser RL, Li Y, Steiner P, Bassi R, Hicklin DJ, Hadari YR. Inhibitory activity of cetuximab on epidermal growth factor receptor mutations in non small cell lung cancers. *Mol Cancer Ther*. 2007 Oct;6(10):2642-51. Epub 2007 Oct 3. PubMed PMID: 17913857.

Kancha RK, von Bubnoff N, Peschel C, Duyster J. Functional analysis of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations and potential implications for EGFR targeted therapy. *Clin Cancer Res*. 2009 Jan 15;15(2):460-7. PubMed PMID: 19147750.

Greulich H, Chen TH, Feng W, Jänne PA, Alvarez JV, Zappaterra M, Bulmer SE, Frank DA, Hahn WC, Sellers WR, Meyerson M. Oncogenic transformation by inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutants. *PLoS Med*. 2005 Nov;2(11):e313. Epub 2005 Oct 4. PubMed PMID: 16187797; PubMed Central PMCID: PMC1240052.

Han SW, Kim TY, Hwang PG, Jeong S, Kim J, Choi IS, Oh DY, Kim JH, Kim DW, Chung DH, Im SA, Kim YT, Lee JS, Heo DS, Bang YJ, Kim NK. Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol*. 2005 Apr 10;23(11):2493-501. Epub 2005 Feb 14. PubMed PMID: 15710947.

Mukohara T, Engelman JA, Hanna NH, Yeap BY, Kobayashi S, Lindeman N, Halmos B, Pearlberg J, Tsuchihashi Z, Cantley LC, Tenen DG, Johnson BE, Jänne PA. Differential effects of gefitinib and cetuximab on non-small-cell lung cancers bearing epidermal growth factor receptor mutations. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Aug 17;97(16):1185-94. PubMed PMID: 16106023.

Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004 May 20;350(21):2129-39. Epub 2004 Apr 29. PubMed PMID: 15118073.

Jackman DM, Holmes AJ, Lindeman N, Wen PY, Kesari S, Borrás AM, Bailey C, de Jong F, Jänne PA, Johnson BE. Response and resistance in a non-small-cell lung cancer patient with an epidermal growth factor receptor mutation and leptomeningeal metastases treated with high-dose gefitinib. *J Clin Oncol*. 2006 Sep 20;24(27):4517-20. PubMed PMID: 16983123.

Yang CH, Yu CJ, Shih JY, Chang YC, Hu FC, Tsai MC, Chen KY, Lin ZZ, Huang CJ, Shun CT, Huang CL, Bean J, Cheng AL, Pao W, Yang PC. Specific EGFR mutations predict treatment outcome of stage IIIB/IV patients with chemotherapy-naïve non-small-cell lung cancer receiving first-line gefitinib monotherapy. *J Clin Oncol*. 2008 Jun 1;26(16):2745-53. PubMed PMID: 18509184.

Lee JC, Vivanco I, Beroukhi R, Huang JH, Feng WL, DeBiasi RM, Yoshimoto K, King JC, Nghiemphu P, Yuza Y, Xu Q, Greulich H, Thomas RK, Paez JG, Peck TC, Linhart DJ, Glatt KA, Getz G, Onofrio R, Ziaugra L, Levine RL, Gabriel S, Kawaguchi T, O'Neill K, Khan

H, Liao LM, Nelson SF, Rao PN, Mischel P, Pieper RO, Cloughesy T, Leahy DJ, Sellers WR, Sawyers CL, Meyerson M, Mellinghoff IK. Epidermal growth factor receptor activation in glioblastoma through novel missense mutations in the extracellular domain. *PLoS Med.* 2006 Dec;3(12):e485. PubMed PMID: 17177598; PubMed Central PMCID: PMC1702556.

Sugio K, Uramoto H, Onitsuka T, Mizukami M, Ichiki Y, Sugaya M, Yasuda M, Takenoyama M, Oyama T, Hanagiri T, Yasumoto K. Prospective phase II study of gefitinib in non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor gene mutations. *Lung Cancer.* 2009 Jun;64(3):314-8. Epub 2008 Nov 6. PubMed PMID: 18992959.

Le Maignan L, Mirebeau-Prunier D, Vervueren L, Jeanfaivre T, Urban T, Hureaux J. First case of A859T epidermal growth factor receptor mutation responding to erlotinib. *J Thorac Oncol.* 2011 Mar;6(3):639-40. PubMed PMID: 21317745.

de Gunst MM, Gallegos-Ruiz MI, Giaccone G, Rodriguez JA. Functional analysis of cancer-associated EGFR mutants using a cellular assay with YFP-tagged EGFR intracellular domain. *Mol Cancer.* 2007 Sep 18;6:56. PubMed PMID: 17877814; PubMed Central PMCID: PMC2064929.

Montagut C, Dalmases A, Bellosillo B, Crespo M, Pairet S, Iglesias M, Salido M, Gallen M, Marsters S, Tsai SP, Minoche A, Somasekar S, Serrano S, Himmelbauer H, Bellmunt J, Rovira A, Settleman J, Bosch F, Albanell J. Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer. *Nat Med.* 2012 Jan 22;18(2):221-3. doi: 10.1038/nm.2609. PubMed PMID: 22270724.

Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, Jänne PA, Kocher O, Meyerson M, Johnson BE, Eck MJ, Tenen DG, Halmos B. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2005 Feb 24;352(8):786-92. PubMed PMID:15728811.

Yang TY, Tsai CR, Chen KC, Hsu KH, Lee HM, Chang GC. Good response to gefitinib in a lung adenocarcinoma harboring a heterozygous complex mutation of L833V and H835L in epidermal growth factor receptor gene. *J Clin Oncol.* 2011 Jun 1;29(16):e468-9. Epub 2011 Mar 21. PubMed PMID: 21422421.

Fukai J, Nishio K, Itakura T, Koizumi F. Antitumor activity of cetuximab against malignant glioma cells overexpressing EGFR deletion mutant variant III. *Cancer Sci.* 2008 Oct;99(10):2062-9. PubMed PMID: 19016767.

FLT3

Gozgit JM, Wong MJ, Wardwell S, Tyner JW, Loriaux MM, Mohemmad QK, Narasimhan NI, Shakespeare WC, Wang F, Druker BJ, Clackson T, Rivera VM. Potent activity of ponatinib (AP24534) in models of FLT3-driven acute myeloid leukemia and other hematologic malignancies. *Mol Cancer Ther.* 2011 Jun;10(6):1028-35. Epub 2011 Apr 11. PubMed PMID: 21482694; PubMed Central PMCID: PMC3236248.

Roskoski R Jr. Sunitinib: a VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 May 4;356(2):323-8. Epub 2007 Mar 7. PubMed PMID: 17367763.

Ikezoe T, Nishioka C, Tasaka T, Yang Y, Komatsu N, Togitani K, Koeffler HP, Taguchi H. The antitumor effects of sunitinib (formerly SU11248) against a variety of human hematologic malignancies: enhancement of growth inhibition via inhibition of mammalian target of rapamycin signaling. *Mol Cancer Ther.* 2006 Oct;5(10):2522-30. PubMed PMID: 17041096.

O'Farrell AM, Abrams TJ, Yuen HA, Ngai TJ, Louie SG, Yee KW, Wong LM, Hong W, Lee LB, Town A, Smolich BD, Manning WC, Murray LJ, Heinrich MC, Cherrington JM. SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo. *Blood.* 2003 May 1;101(9):3597-605. Epub 2003 Jan 16. PubMed PMID:12531805.

Schittenhelm MM, Yee KW, Tyner JW, McGreevey L, Haley AD, Town A, Griffith DJ, Bainbridge T, Brazier RM, O'Farrell AM, Cherrington JM, Heinrich MC. FLT3 K663Q is a novel AML-associated oncogenic kinase: Determination of biochemical properties and sensitivity to Sunitinib (SU11248). *Leukemia.* 2006 Nov;20(11):2008-14. Epub 2006 Sep 14. PubMed PMID: 16990784.

Kancha RK, Grundler R, Peschel C, Duyster J. Sensitivity toward sorafenib and sunitinib varies between different activating and drug-resistant FLT3-ITD mutations. *Exp Hematol.* 2007 Oct;35(10):1522-6. PubMed PMID: 17889720.

HER2

Kancha RK, von Bubnoff N, Bartosch N, Peschel C, Engh RA, Duyster J. Differential sensitivity of ERBB2 kinase domain mutations towards lapatinib. *PLoS One*. 2011;6(10):e26760. Epub 2011 Oct 28. PubMed PMID: 22046346; PubMed Central PMCID: PMC3203921.

Wang SE, Narasanna A, Perez-Torres M, Xiang B, Wu FY, Yang S, Carpenter G, Gazdar AF, Muthuswamy SK, Arteaga CL. HER2 kinase domain mutation results in constitutive phosphorylation and activation of HER2 and EGFR and resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Cell*. 2006 Jul;10(1):25-38. PubMed PMID: 16843263.

Gilmer TM, Cable L, Alligood K, Rusnak D, Spehar G, Gallagher KT, Woldu E, Carter HL, Truesdale AT, Shewchuk L, Wood ER. Impact of common epidermal growth factor receptor and HER2 variants on receptor activity and inhibition by lapatinib. *Cancer Res*. 2008 Jan 15;68(2):571-9. PubMed PMID: 18199554.

Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2006 Jun 15;354(24):2619-21. PubMed PMID: 16775247.

Gori S, Ludovini V, Colozza M, Pistola L, Tofanetti FR, Flacco A, Foglietta J, Minenza E, Stocchi L, De Angelis V, Crinò L. *HER2*, *EGFR*, *PIK3CA* mutations in HER2+ metastatic breast cancer (MBC) patients (pts) treated with trastuzumab (T): Incidence and correlation with response. *J Clin Oncol* 26: 2008 (May 20 suppl; abstr 1031)

Trowe T, Boukouvala S, Calkins K, Cutler RE Jr, Fong R, Funke R, Gendreau SB, Kim YD, Miller N, Woolfrey JR, Vysotskaia V, Yang JP, Gerritsen ME, Matthews DJ, Lamb P, Heuer TS. EXEL-7647 inhibits mutant forms of ErbB2 associated with lapatinib resistance and neoplastic transformation. *Clin Cancer Res*. 2008 Apr 15;14(8):2465-75. PubMed PMID: 18413839.

HER4

Prickett TD, Agrawal NS, Wei X, Yates KE, Lin JC, Wunderlich JR, Cronin JC, Cruz P, Rosenberg SA, Samuels Y. Analysis of the tyrosine kinome in melanoma reveals recurrent mutations in ERBB4. *Nat Genet*. 2009 Oct;41(10):1127-32. Epub 2009 Aug 30. PubMed PMID: 19718025; PubMed Central PMCID: PMC2897709.

Tvorogov D, Sundvall M, Kurppa K, Hollmén M, Repo S, Johnson MS, Elenius K. Somatic mutations of ErbB4: selective loss-of-function phenotype affecting signal transduction pathways in cancer. *J Biol Chem*. 2009 Feb 27;284(9):5582-91. Epub 2008 Dec 19. PubMed PMID: 19098003.

Rudloff U, Samuels Y. A growing family: adding mutated Erbb4 as a novel cancer target. *Cell Cycle*. 2010 Apr 15;9(8):1487-503. Epub 2010 Apr 15. PubMed PMID:20404484; PubMed Central PMCID: PMC3384517.

KIT

Heinrich MC, Marino-Enriquez A, Presnell A, Donsky RS, Griffith DJ, McKinley A, Patterson J, Taguchi T, Liang CW, Fletcher JA. Sorafenib inhibits many kinase mutations associated with drug-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Mol Cancer Ther*. 2012 Aug;11(8):1770-80. Epub 2012 Jun 4. PubMed PMID: 22665524.

Heinrich MC, Griffith DJ, Druker BJ, Wait CL, Ott KA, Zigler AJ. Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood*. 2000 Aug 1;96(3):925-32. PubMed PMID: 10910906.

Kumar R, Crouthamel MC, Rominger DH, Gontarek RR, Tummino PJ, Levin RA, King AG. Myelosuppression and kinase selectivity of multikinase angiogenesis inhibitors. *Br J Cancer*. 2009 Nov 17;101(10):1717-23. Epub 2009 Oct 20. PubMed PMID: 19844230; PubMed Central PMCID: PMC2768111.

Schittenhelm MM, Shiraga S, Schroeder A, Corbin AS, Griffith D, Lee FY, Bokemeyer C, Deininger MW, Druker BJ, Heinrich MC. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC/ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Res.* 2006 Jan 1;66(1):473-81. PubMed PMID: 16397263.

Tasigna, Summary of Product Characteristics
<http://www.tasigna.com/en/docs/Tasigna%20EUSMPC%20English%20%20Jul-2012.pdf>

Guo T, Agaram NP, Wong GC, Hom G, D'Adamo D, Maki RG, Schwartz GK, Veach D, Clarkson BD, Singer S, DeMatteo RP, Besmer P, Antonescu CR. Sorafenib inhibits the imatinib-resistant KIT670I gatekeeper mutation in gastrointestinal stromal tumor. *Clin Cancer Res.* 2007 Aug 15;13(16):4874-81. PubMed PMID: 17699867.

Carter TA, Wodicka LM, Shah NP, Velasco AM, Fabian MA, Treiber DK, Milanov ZV, Atteridge CE, Biggs WH 3rd, Edeen PT, Floyd M, Ford JM, Grotzfeld RM, Herrgard S, Insko DE, Mehta SA, Patel HK, Pao W, Sawyers CL, Varmus H, Zarrinkar PP, Lockhart DJ. Inhibition of drug-resistant mutants of ABL, KIT, and EGF receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Aug 2;102(31):11011-6. Epub 2005 Jul 26. PubMed PMID: 16046538; PubMed Central PMCID: PMC1180625.

Zhang HM, Yu X, Greig MJ, Gajiwala KS, Wu JC, Diehl W, Lunney EA, Emmett MR, Marshall AG. Drug binding and resistance mechanism of KIT tyrosine kinase revealed by hydrogen/deuterium exchange FTICR mass spectrometry. *Protein Sci.* 2010 Apr;19(4):703-15. PubMed PMID: 20095048; PubMed Central PMCID: PMC2867011.

Woodman SE, Trent JC, Stemke-Hale K, Lazar AJ, Pricl S, Pavan GM, Fermeiglia M, Gopal YN, Yang D, Podoloff DA, Ivan D, Kim KB, Papadopoulos N, Hwu P, Mills GB, Davies MA. Activity of dasatinib against L576P KIT mutant melanoma: molecular, cellular, and clinical correlates. *Mol Cancer Ther.* 2009 Aug;8(8):2079-85. Epub 2009 Aug 11. PubMed PMID: 19671763; PubMed Central PMCID: PMC3346953.

Ikezoe T, Nishioka C, Tasaka T, Yang Y, Komatsu N, Togitani K, Koeffler HP, Taguchi H. The antitumor effects of sunitinib (formerly SU11248) against a variety of human hematologic malignancies: enhancement of growth inhibition via inhibition of mammalian target of rapamycin signaling. *Mol Cancer Ther.* 2006 Oct;5(10):2522-30. PubMed PMID: 17041096.

Schiroli L, Nannini N, Nicoli D, Cavazza A, Valli R, Buti S, Garagnani L, Sartori G, Calabrese F, Marchetti A, Buttitta F, Felicioni L, Migaldi M, Rea F, Di Chiara F, Mengoli MC, Rossi G. Activating c-KIT mutations in a subset of thymic carcinoma and response to different c-KIT inhibitors. *Ann Oncol.* 2012 Sep;23(9):2409-14. Epub 2012 Feb 21. PubMed PMID: 22357254.

Shah NP, Lee FY, Luo R, Jiang Y, Donker M, Akin C. Dasatinib (BMS-354825) inhibits KITD816V, an imatinib-resistant activating mutation that triggers neoplastic growth in most patients with systemic mastocytosis. *Blood.* 2006 Jul 1;108(1):286-91. Epub 2006 Jan 24. PubMed PMID: 16434489.

Guo T, Hajdu M, Agaram NP, Shinoda H, Veach D, Clarkson BD, Maki RG, Singer S, Dematteo RP, Besmer P, Antonescu CR. Mechanisms of sunitinib resistance in gastrointestinal stromal tumors harboring KITAY502-3ins mutation: an in vitro mutagenesis screen for drug resistance. *Clin Cancer Res.* 2009 Nov 15;15(22):6862-70. Epub 2009 Oct 27. PubMed PMID: 19861442; PubMed Central PMCID: PMC2783687.

Antonescu CR, Busam KJ, Francone TD, Wong GC, Guo T, Agaram NP, Besmer P, Jungbluth A, Gimbel M, Chen CT, Veach D, Clarkson BD, Paty PB, Weiser MR. L576P KIT mutation in anal melanomas correlates with KIT protein expression and is sensitive to specific kinase inhibition. *Int J Cancer.* 2007 Jul 15;121(2):257-64. PubMed PMID: 17372901.

MET

Zou HY, Li Q, Lee JH, Arango ME, McDonnell SR, Yamazaki S, Koudriakova TB, Alton G, Cui JJ, Kung PP, Nambu MD, Los G, Bender SL, Mroczkowski B, Christensen JG. An orally available small-molecule inhibitor of c-Met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms. *Cancer Res.* 2007 May 1;67(9):4408-17. PubMed PMID: 17483355.

Phase 1 Safety, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study of PF-02341066, a c-Met/HGFR Selective Tyrosine Kinase Inhibitor, Administered Orally to Patients with Advanced Cancer

http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/202570Orig1s000MedR.pdf

Tiedt R, Degenkolbe E, Furet P, Appleton BA, Wagner S, Schoepfer J, Buck E, Ruddy DA, Monahan JE, Jones MD, Blank J, Haasen D, Drueckes P, Wartmann M, McCarthy C, Sellers WR, Hofmann F. A drug resistance screen using a selective MET inhibitor reveals a spectrum of mutations that partially overlap with activating mutations found in cancer patients. *Cancer Res.* 2011 Aug 1;71(15):5255-64. Epub 2011 Jun 22. PubMed PMID: 21697284.

Tanizaki J, Okamoto I, Okamoto K, Takezawa K, Kuwata K, Yamaguchi H, Nakagawa K. MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) shows differential antitumor effects in non-small cell lung cancer according to MET alterations. *J Thorac Oncol.* 2011 Oct;6(10):1624-31. PubMed PMID: 21716144.

PDGFR

Davids MS, Charlton A, Ng SS, Chong ML, Laubscher K, Dar M, Hodge J, Soong R, Goh BC. Response to a novel multitargeted tyrosine kinase inhibitor pazopanib in metastatic Merkel cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2009 Sep 10;27(26):e97-100. Epub 2009 Jun 29. Erratum in: *J Clin Oncol.* 2010 Jun 20;28(18):3098. Davids, Matthew [corrected to Davids, Matthew S]. PubMed PMID: 19564526.

Kumar R, Crouthamel MC, Rominger DH, Gontarek RR, Tummino PJ, Levin RA, King AG. Myelosuppression and kinase selectivity of multikinase angiogenesis inhibitors. *Br J Cancer.* 2009 Nov 17;101(10):1717-23. Epub 2009 Oct 20. PubMed PMID: 19844230; PubMed Central PMCID: PMC2768111.

Chow LQ, Eckhardt SG. Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. *J Clin Oncol.* 2007 Mar 1;25(7):884-96. Review. PubMed PMID: 17327610.

Heinrich MC, Maki RG, Corless CL, Antonescu CR, Harlow A, Griffith D, Town A, McKinley A, Ou WB, Fletcher JA, Fletcher CD, Huang X, Cohen DP, Baum CM, Demetri GD. Primary and secondary kinase genotypes correlate with the biological and clinical activity of sunitinib in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol.* 2008 Nov 20;26(33):5352-9. Epub 2008 Oct 27. PubMed PMID: 18955458; PubMed Central PMCID: PMC2651076.

von Bubnoff N, Gorantla SP, Engh RA, Oliveira TM, Thöne S, Aberg E, Peschel C, Duyster J. The low frequency of clinical resistance to PDGFR inhibitors in myeloid neoplasms with abnormalities of PDGFRA might be related to the limited repertoire of possible PDGFRA kinase domain mutations in vitro. *Oncogene.* 2011 Feb 24;30(8):933-43. Epub 2010 Oct 25. PubMed PMID: 20972453.

Heinrich MC, Marino-Enriquez A, Presnell A, Donsky RS, Griffith DJ, McKinley A, Patterson J, Taguchi T, Liang CW, Fletcher JA. Sorafenib inhibits many kinase mutations associated with drug-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Mol Cancer Ther.* 2012 Aug;11(8):1770-80. Epub 2012 Jun 4. PubMed PMID: 22665524.

RET

Carlomagno F, Guida T, Anaganti S, Vecchio G, Fusco A, Ryan AJ, Billaud M, Santoro M. Disease associated mutations at valine 804 in the RET receptor tyrosine kinase confer resistance to selective kinase inhibitors. *Oncogene.* 2004 Aug 12;23(36):6056-63. PubMed PMID: 15184865. VEGFR2

Gramza AW, Patterson J, Peters J, Kaufman M, Wise S, Flynn D. Activity of novel RET inhibitors against RET genotypes associated with medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr 5559)

Christensen JG. A preclinical review of sunitinib, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor with anti-angiogenic and antitumour activities. *Ann Oncol.* 2007 Sep;18 Suppl 10:x3-10. Review. PubMed PMID: 17761721.

Broutin S, Petit B, Talbot M, Dubuy C, Caillou B, Lazar V, Ryan A, Schlumberger M, Bidart J-M. In vitro and in vivo activity of vandetanib in a human medullary thyroid carcinoma model bearing RET C634W activating mutation. AACR 2009, poster. http://www.igr.fr/service.php?p_m=download&p_file=enseigner/2009_pdf_affiches_ms/broutin_aacr_2009.pdf

Wells SA Jr, Gosnell JE, Gagel RF, Moley J, Pfister D, Sosa JA, Skinner M, Krebs A, Vasselli J, Schlumberger M. Vandetanib for the treatment of patients with locally advanced or metastatic hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Feb 10;28(5):767-72. Epub 2010 Jan 11. PubMed PMID: 20065189; PubMed Central PMCID: PMC2834392.

Robinson BG, Paz-Ares L, Krebs A, Vasselli J, Haddad R. Vandetanib (100 mg) in patients with locally advanced or metastatic hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Jun;95(6):2664-71. Epub 2010 Apr 6. PubMed PMID: 20371662; PubMed Central PMCID: PMC2902067.

Brassard M, Rondeau G. Role of vandetanib in the management of medullary thyroid cancer. *Biologics*. 2012;6:59-66. Epub 2012 Mar 8. PubMed PMID: 22500115; PubMed Central PMCID: PMC3324840.

Carlomagno F, Guida T, Anaganti S, Provitera L, Kjaer S, McDonald NQ, Ryan AJ, Santoro M. Identification of tyrosine 806 as a molecular determinant of RET kinase sensitivity to ZD6474. *Endocr Relat Cancer*. 2009 Mar;16(1):233-41. Epub 2008 Nov 24. PubMed PMID: 19029224.

Jeong WJ, Mo JH, Park MW, Choi IJ, An SY, Jeon EH, Ahn SH. Sunitinib inhibits papillary thyroid carcinoma with RET/PTC rearrangement but not BRAF mutation. *Cancer Biol Ther*. 2011 Sep 1;12(5):458-65. Epub 2011 Sep 1. PubMed PMID:21725210.

Ogino H, Yano S, Kakiuchi S, Yamada T, Ikuta K, Nakataki E, Goto H, Hanibuchi M, Nishioka Y, Ryan A, Sone S. Novel dual targeting strategy with vandetanib induces tumor cell apoptosis and inhibits angiogenesis in malignant pleural mesothelioma cells expressing RET oncogenic rearrangement. *Cancer Lett*. 2008 Jun 28;265(1):55-66. Epub 2008 Mar 24.

SRC

O'Hare T, Walters DK, Stoffregen EP, Jia T, Manley PW, Mestan J, Cowan-Jacob SW, Lee FY, Heinrich MC, Deininger MW, Druker BJ. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res*. 2005 Jun 1;65(11):4500-5. PubMed PMID: 15930265.

VEGFR2

Chow LQ, Eckhardt SG. Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. *J Clin Oncol*. 2007 Mar 1;25(7):884-96. Review. PubMed PMID: 17327610.

Hamberg P, Verweij J, Sleijfer S. (Pre-)clinical pharmacology and activity of pazopanib, a novel multikinase angiogenesis inhibitor. *Oncologist*. 2010;15(6):539-47. Epub 2010 May 28. Review. PubMed PMID: 20511320; PubMed Central PMCID: PMC3227994.

Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res*. 2004 Oct 1;64(19):7099-109. PubMed PMID: 15466206.

Antonescu CR, Yoshida A, Guo T, Chang NE, Zhang L, Agaram NP, Qin LX, Brennan MF, Singer S, Maki RG. KDR activating mutations in human angiosarcomas are sensitive to specific kinase inhibitors. *Cancer Res*. 2009 Sep 15;69(18):7175-9. Epub 2009 Sep 1. PubMed PMID: 19723655; PubMed Central PMCID: PMC2763376.

Farmakokinetikai adatok

Levêque D, Maloisel F. Clinical pharmacokinetics of imatinib mesylate. *In Vivo*. 2005 Jan-Feb;19(1):77-84. Review. PubMed PMID: 15796158.

Demetri GD, Casali PG, Blay JY, von Mehren M, Morgan JA, Bertulli R, Ray-Coquard I, Cassier P, Davey M, Borghaei H, Pink D, Debiec-Rychter M, Cheung W, Bailey SM, Veronese ML, Reichardt A, Fumagalli E, Reichardt P. A phase I study of single-agent nilotinib or in combination with imatinib in patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res*. 2009 Sep 15;15(18):5910-6. Epub 2009 Sep 1. PubMed PMID: 19723647; PubMed Central PMCID:PMC2861356.

Wang X, Hochhaus A, Kantarjian HM, Agrawal S, Roy A, Pfister M, Chen T, Bleickardt E, Nicaise C, Shah N. Dasatinib pharmacokinetics and exposure-response (E-R): Relationship to safety and efficacy in patients (pts) with chronic myeloid leukemia (CML). *J Clin Oncol* 26: 2008 (May 20 suppl; abstr 3590)

Tan W, Wilner KD, Bang Y, Kwak EL, Maki RG, Camidge DR, Solomon BJ, Ou SI, Salgia R, Clark JW. Pharmacokinetics (PK) of PF-02341066, a dual ALK/MET inhibitor after multiple oral doses to advanced cancer patients. *J Clin Oncol* 28:15s, 2010 (suppl; abstr 2596)

http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/pdf/prodpharma/sbd-smd/drug-med/sbd_smd_2012_zelboraf_148693-eng.pdf

Swaisland HC, Smith RP, Laight A, Kerr DJ, Ranson M, Wilder-Smith CH, Duvauchelle T. Single-dose clinical pharmacokinetic studies of gefitinib. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(11):1165-77. PubMed PMID: 16231967.

Hamilton M, Wolf JL, Rusk J, Beard SE, Clark GM, Witt K, Cagnoni PJ. Effects of smoking on the pharmacokinetics of erlotinib. *Clin Cancer Res*. 2006 Apr 1;12(7 Pt 1):2166-71. PubMed PMID: 16609030.

Tan AR, Moore DF, Hidalgo M, Doroshow JH, Poplin EA, Goodin S, Mauro D, Rubin EH. Pharmacokinetics of cetuximab after administration of escalating single dosing and weekly fixed dosing in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2006 Nov 1;12(21):6517-22. Epub 2006 Oct 25. PubMed PMID: 17065274.

Minkin P, Zhao M, Chen Z, Ouwerkerk J, Gelderblom H, Baker SD. Quantification of sunitinib in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2008 Oct 15;874(1-2):84-8. Epub 2008 Sep 12. PubMed PMID: 18823825; PubMed Central PMCID: PMC2612784.

Chu QS, Cianfrocca ME, Goldstein LJ, Gale M, Murray N, Loftiss J, Arya N, Koch KM, Pandite L, Fleming RA, Paul E, Rowinsky EK. A phase I and pharmacokinetic study of lapatinib in combination with letrozole in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res*. 2008 Jul 15;14(14):4484-90. PubMed PMID: 18628463.

http://us.gsk.com/products/assets/us_votrient.pdf

Strumberg D, Clark JW, Awada A, Moore MJ, Richly H, Hendlisch A, Hirte HW, Eder JP, Lenz HJ, Schwartz B. Safety, pharmacokinetics, and preliminary antitumor activity of sorafenib: a review of four phase I trials in patients with advanced refractory solid tumors. *Oncologist*. 2007 Apr;12(4):426-37. Review. PubMed PMID: 17470685.

Martin P, Oliver S, Robertson J, Kennedy SJ, Read J, Duvauchelle T. Pharmacokinetic drug interactions with vandetanib during coadministration with rifampicin or itraconazole. *Drugs R D*. 2011;11(1):37-51. doi: 10.2165/11586980-000000000-00000. PubMed PMID: 21410294.

7.2. A TARGET-DRUG ASSOCIATION ANALYZER™ -hez felhasznált közlemények jegyzéke és evidenciájuk

	Referencia	Kapcsolat szintje	Evidencia szintje
1	Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2008 Apr 1;26(10):1626-34. Epub 2008 Mar 3. PubMed PMID: 18316791.	-H	CIII
2	Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, Côté JF, Tomasic G, Penna C, Ducreux M, Rougier P, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. Cancer Res. 2006 Apr 15;66(8):3992-5. PubMed PMID: 16618717. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_erbitux.pdf	-H	CIII
3	Langer CJ. Roles of EGFR and KRAS Mutations in the Treatment Of Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. P T. 2011 May;36(5):263-79. PubMed PMID: 21785539; PubMed Central PMCID: PMC3138369.	-M	CIII
4	Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2008 Dec 10;26(35):5705-12. Epub 2008 Nov 10. PubMed PMID: 19001320.	-H	CIII
5	Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M, Hogg D, Lorigan P, Lebbe C, Jouary T, Schadendorf D, Ribas A, O'Day SJ, Sosman JA, Kirkwood JM, Eggermont AM, Dreno B, Nolop K, Li J, Nelson B, Hou J, Lee RJ, Flaherty KT, McArthur GA; BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med. 2011 Jun 30;364(26):2507-16. Epub 2011 Jun 5. PubMed PMID: 21639808. http://www.rochecanada.com/fmfiles/re7234008/Research/ClinicalTrialsForms/Products/ConsumerInformation/MonographsandPublicAdvisories/Zelboraf/zalborafSIE.pdf	+H	CI & R
6	Rampias T, Giagini A, Matsuzaki H, Bartz V, Siolos S, Vaja E, Haralambakis N, Katsaounis P, Scorilas A, Psyrri A. Genetic alterations in HRAS gene in relation to outcome and response to cetuximab in head and neck squamous cell carcinoma. J Clin Oncol 30, 2012 (suppl; abstr 5574).	-H	CIII
7	Kasper S, Breitenbuecher F, Reis H, Brandau S, Worm K, Köhler J, Paul A, Trarbach T, Schmid KW, Schuler M. Oncogenic RAS simultaneously protects against anti-EGFR antibody-dependent cellular cytotoxicity and EGFR signaling blockade. Oncogene. 2012 Jul 16. doi: 10.1038/onc.2012.302. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22797062.	-H	PC
8	De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilias G, Kalogeras KT, Kotoula V, Papamichael D, Laurent-Puig P, Penault-Llorca F, Rougier P, Vincenzi B, Santini D, Tonini G, Cappuzzo F, Frattini M, Molinari F,	-M	CIII

	Saletti P, De Dosso S, Martini M, Bardelli A, Siena S, Sartore-Bianchi A, Tabernero J, Macarulla T, Di Fiore F, Gangloff AO, Ciardiello F, Pfeiffer P, Qvortrup C, Hansen TP, Van Cutsem E, Piessevaux H, Lambrechts D, Delorenzi M, Tejpar S. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. <i>Lancet Oncol</i> . 2010 Aug;11(8):753-62. Epub 2010 Jul 8. PubMed PMID: 20619739.		
9	Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, Müller MC, Kaeda JS, Foroni L, Druker BJ, Guilhot F, Larson RA, O'Brien SG, Rudoltz MS, Mone M, Wehrle E, Modur V, Goldman JM, Radich JP; IRIS investigators. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). <i>Blood</i> . 2010 Nov 11;116(19):3758-65. Epub 2010 Aug 2. PubMed PMID: 20679528; PubMed Central PMCID: PMC3266053. http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/gleevec_tabs.pdf	+H	CI & R
10	Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, Baccarani M, Agarwal MB, Undurraga MS, Wang J, Ipiña JJ, Kim DW, Ogura M, Pavlovsky C, Junghanss C, Milone JH, Nicolini FE, Robak T, Van Droogenbroeck J, Vellenga E, Bradley-Garelik MB, Zhu C, Hochhaus A. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). <i>Blood</i> . 2012 Feb 2;119(5):1123-9. Epub 2011 Dec 9. PubMed PMID: 22160483. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_sprycel.pdf	+H	CI & R
11	Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, le Coutre P, Etienne G, Lobo C, Pasquini R, Clark RE, Hochhaus A, Hughes TP, Gallagher N, Hoenekopp A, Dong M, Haque A, Larson RA, Kantarjian HM; ENESTnd Investigators. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. <i>N Engl J Med</i> . 2010 Jun 17;362(24):2251-9. Epub 2010 Jun 5. PubMed PMID: 20525993. http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/tasigna.pdf	+H	CI & R
12	PROFILE 1007: A Phase 3 Trial of Crizotinib (PF-02341066) Versus Standard Of Care In Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) With a Specific Alteration of the Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Gene. ESMO 2012 http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=676	+H	CI & R
13	Mok TS, D'arcangelo M, Califano R. Clinical outcomes with erlotinib in patients with epidermal growth factor receptor mutation. <i>Drugs</i> . 2012 Jun 19;72 Suppl 1:3-10. doi: 10.2165/1163014-S0-000000000-00000. PubMed PMID: 22712792.	+H	CI
14	D'Incecco A, Cappuzzo F. Gefitinib for non-small-cell lung cancer treatment. <i>Expert Opin Drug Saf</i> . 2011 Nov;10(6):987-96. Epub 2011 Sep 12. Review. PubMed PMID: 21905963. http://www.iressa.com/_mshost5259502/content/6906430/Gefitinib-product-informationasad	+H	CI & R
15	Khambata-Ford S, Harbison CT, Hart LL, Awad M, Xu LA, Horak CE, Dakhil S, Hermann RC, Lynch TJ, Weber MR. Analysis of potential predictive markers of cetuximab benefit in BMS099, a phase III study of cetuximab and first-line taxane/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer. <i>J Clin Oncol</i> . 2010 Feb 20;28(6):918-27. Epub 2010 Jan 25. PubMed PMID: 20100958.	+H	CI&R

	http://packageinserts.bms.com/pi/pi_erbitux.pdf		
16	Fiedler W, Serve H, Döhner H, Schwittay M, Ottmann OG, O'Farrell AM, Bello CL, Allred R, Manning WC, Cherrington JM, Louie SG, Hong W, Brega NM, Massimini G, Scigalla P, Berdel WE, Hossfeld DK. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. Blood. 2005 Feb 1;105(3):986-93. Epub 2004 Sep 30. PubMed PMID: 15459012. http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=607	+H	CII
17	Crivellari D, Spazzapan S, Lombardi D, Militello L, Torrisi E, Russo AE, Sorio R, Talamini R, Miolo G, Carli P, Veronesi A. Lapatinib-based therapy in heavily pretreated HER2-positive metastatic breast cancer: a single institution experience. Tumori. 2012 Jan-Feb;98(1):33-8. doi:10.1700/1053.11497. PubMed PMID: 22495699. http://us.gsk.com/products/assets/us_tykerb.pdf	+H	CI&R
18	Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2006 Jun 15;354(24):2619-21. PubMed PMID: 16775247. http://www.gene.com/gene/products/information/pdf/herceptin-prescribing.pdf	+H	CII
19	Keating GM. Pertuzumab: in the first-line treatment of HER2-positive metastatic breast cancer. Drugs. 2012 Feb 12;72(3):353-60. doi:10.2165/11209000-000000000-00000. Review. PubMed PMID: 22316351. http://www.gene.com/gene/products/information/perjeta/pdf/perjeta_prescribing.pdf	+H	CI&R
20	Qiu C, Tarrant MK, Choi SH, Sathiyamurthy A, Bose R, Banjade S, Pal A, Bornmann WG, Lemmon MA, Cole PA, Leahy DJ. Mechanism of activation and inhibition of the HER4/ErbB4 kinase. Structure. 2008 Mar;16(3):460-7. PubMed PMID: 18334220; PubMed Central PMCID: PMC2858219.	+H	PC
21	Debiec-Rychter M, Sciort R, Le Cesne A, Schlemmer M, Hohenberger P, van Oosterom AT, Blay JY, Leyvraz S, Stul M, Casali PG, Zalcberg J, Verweij J, Van Glabbeke M, Hagemijer A, Judson I; EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group; Italian Sarcoma Group; Australasian GastroIntestinal Trials Group. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours. Eur J Cancer. 2006 May;42(8):1093-103. Epub 2006 Apr 18. PubMed PMID: 16624552. http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/gleevec_tabs.pdf	+H	CI&R
22	Minor DR, Kashani-Sabet M, Garrido M, O'Day SJ, Hamid O, Bastian BC. Sunitinib therapy for melanoma patients with KIT mutations. Clin Cancer Res. 2012 Mar 1;18(5):1457-63. Epub 2012 Jan 18. PubMed PMID: 22261812. http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=607	+H	CII
23	Kluger HM, Dudek AZ, McCann C, Ritacco J, Southard N, Jilaveanu LB, Molinaro A, Sznol M. A phase 2 trial of dasatinib in advanced melanoma. Cancer. 2011 May 15;117(10):2202-8. doi: 10.1002/cncr.25766. Epub 2010 Nov 29. PubMed PMID: 21523734; PubMed Central PMCID: PMC3116034. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_sprycel.pdf	+H	CII

24	Reichardt P, Blay JY, Gelderblom H, Schlemmer M, Demetri GD, Bui-Nguyen B, McArthur GA, Yazji S, Hsu Y, Galetic I, Rutkowski P. Phase III study of nilotinib versus best supportive care with or without a TKI in patients with gastrointestinal stromal tumors resistant to or intolerant of imatinib and sunitinib. <i>Ann Oncol.</i> 2012 Jul;23(7):1680-7. Epub 2012 Feb 21. PubMed PMID: 22357255. http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/tasigna.pdf	+H	CI&R
25	Davids MS, Charlton A, Ng SS, Chong ML, Laubscher K, Dar M, Hodge J, Soong R, Goh BC. Response to a novel multitargeted tyrosine kinase inhibitor pazopanib in metastatic Merkel cell carcinoma. <i>J Clin Oncol.</i> 2009 Sep 10;27(26):e97-100. Epub 2009 Jun 29. Erratum in: <i>J Clin Oncol.</i> 2010 Jun 20;28(18):3098. Davids, Matthew [corrected to Davids, Matthew S]. PubMed PMID: 19564526. http://us.gsk.com/products/assets/us_votrient.pdf	+H	CIII
26	von Bubnoff N, Gorantla SP, Engh RA, Oliveira TM, Thöne S, Aberg E, Peschel C, Duyster J. The low frequency of clinical resistance to PDGFR inhibitors in myeloid neoplasms with abnormalities of PDGFRA might be related to the limited repertoire of possible PDGFRA kinase domain mutations in vitro. <i>Oncogene.</i> 2011 Feb 24;30(8):933-43. Epub 2010 Oct 25. PubMed PMID: 20972453.	+H	PC
27	McDermott U, Ames RY, Iafrate AJ, Maheswaran S, Stubbs H, Greninger P, McCutcheon K, Milano R, Tam A, Lee DY, Lucien L, Brannigan BW, Ulkus LE, Ma XJ, Erlander MG, Haber DA, Sharma SV, Settleman J. Ligand-dependent platelet-derived growth factor receptor (PDGFR)-alpha activation sensitizes rare lung cancer and sarcoma cells to PDGFR kinase inhibitors. <i>Cancer Res.</i> 2009 May 1;69(9):3937-46. Epub 2009 Apr 14. PubMed PMID: 19366796; PubMed Central PMCID: PMC2676215.	+H	PC
28	Antonescu CR, Yoshida A, Guo T, Chang NE, Zhang L, Agaram NP, Qin LX, Brennan MF, Singer S, Maki RG. KDR activating mutations in human angiosarcomas are sensitive to specific kinase inhibitors. <i>Cancer Res.</i> 2009 Sep 15;69(18):7175-9. Epub 2009 Sep 1. PubMed PMID: 19723655; PubMed Central PMCID: PMC2763376.	+H	PC
29	Tanizaki J, Okamoto I, Okamoto K, Takezawa K, Kuwata K, Yamaguchi H, Nakagawa K. MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) shows differential antitumor effects in non-small cell lung cancer according to MET alterations. <i>J Thorac Oncol.</i> 2011 Oct;6(10):1624-31. PubMed PMID: 21716144.	+M	PC
30	Wells SA Jr, Robinson BG, Gagel RF, Dralle H, Fagin JA, Santoro M, Baudin E, Elisei R, Jarzab B, Vasselli JR, Read J, Langmuir P, Ryan AJ, Schlumberger MJ. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial. <i>J Clin Oncol.</i> 2012 Jan 10;30(2):134-41. Epub 2011 Oct 24. PubMed PMID: 22025146. http://www1.astrazeneca-us.com/pi/caprelsa.pdf	+H	CI&R
31	De Souza JA, Busaidy N, Zimrin A, Seiwert TY, Villaflor VM, Poluru KB, Reddy PL, Nam J, Vokes EE, Cohen EE. Phase II trial of sunitinib in medullary thyroid cancer (MTC). <i>J Clin Oncol</i> 28:15s, 2010 (suppl; abstr 5504)	+H	CI
32	Seront E, Rottey S, Sautois B, Kerger J, D'Hondt LA, Verschaeve V, Canon JL, Dopchie C, Vandenbulcke JM,	-L	CI

	Whenham N, Goeminne JC, Clausse M, Verhoeven D, Glorieux P, Branders S, Dupont P, Schoonjans J, Feron O, Machiels JP. Phase II study of everolimus in patients with locally advanced or metastatic transitional cell carcinoma of the urothelial tract: clinical activity, molecular response, and biomarkers. <i>Ann Oncol.</i> 2012 Oct;23(10):2663-70. Epub 2012 Apr 3. PubMed PMID: 22473592.		
33	Janku F, Tsimberidou AM, Garrido-Laguna I, Wang X, Luthra R, Hong DS, Naing A, Falchook GS, Moroney JW, Piha-Paul SA, Wheler JJ, Moulder SL, Fu S, Kurzrock R. PIK3CA mutations in patients with advanced cancers treated with PI3K/AKT/mTOR axis inhibitors. <i>Mol Cancer Ther.</i> 2011 Mar;10(3):558-65. Epub 2011 Jan 7. PubMed PMID: 21216929; PubMed Central PMCID: PMC3072168.	+H	CII
34	Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V, Goodwin PJ. Metformin in cancer: translational challenges. <i>J Mol Endocrinol.</i> 2012 Mar 29;48(3):R31-43. Print 2012. Review. PubMed PMID: 22355097.	+H	PC
35	Baselga J, Semiglazov V, van Dam P, Manikhas A, Bellet M, Mayordomo J, Campone M, Kubista E, Greil R, Bianchi G, Steinseifer J, Molloy B, Tokaji E, Gardner H, Phillips P, Stumm M, Lane HA, Dixon JM, Jonat W, Rugo HS. Phase II randomized study of neoadjuvant everolimus plus letrozole compared with placebo plus letrozole in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. <i>J Clin Oncol.</i> 2009 Jun 1;27(16):2630-7. Epub 2009 Apr 20. PubMed PMID: 19380449.	+H	CI
36	Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling YH, Byun DS, Nasser S, Arango D, Shin J, Klampfer L, Augenlicht LH, Perez-Soler R, Mariadason JM. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. <i>Cancer Res.</i> 2008 Mar 15;68(6):1953-61. Erratum in: <i>Cancer Res.</i> 2008 Aug 15;68(16):6859. Soler, Roman Perez [corrected to Perez-Soler, Roman]. <i>Cancer Res.</i> 2009 Dec 1;69(23):9156. PubMed PMID:	-H	PC
37	Miller TW, Balko JM, Arteaga CL. Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer. <i>J Clin Oncol.</i> 2011 Nov 20;29(33):4452-61. Epub 2011 Oct 17. Review. PubMed PMID: 22010023; PubMed Central PMCID: PMC3221526.	-H	CII
38	Tanic N, Milovanovic Z, Tanic N, Dzodic R, Juranic Z, Susnjar S, Plesinac-Karapandzic V, Tatic S, Dramicanin T, Davidovic R, Dimitrijevic B. The impact of PTEN tumor suppressor gene on acquiring resistance to tamoxifen treatment in breast cancer patients. <i>Cancer Biol Ther.</i> 2012 Aug 15;13(12). [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22892847.	-H	CII
39	Ibrahim N, Yu Y, Walsh WR, Yang JL. Molecular targeted therapies for cancer: sorafenib mono-therapy and its combination with other therapies (review). <i>Oncol Rep.</i> 2012 May;27(5):1303-11. doi: 10.3892/or.2012.1675. Epub 2012 Feb 6. Review. PubMed PMID: 22323095.	+H	CI
40	Chow LQ, Eckhardt SG. Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. <i>J Clin Oncol.</i> 2007 Mar 1;25(7):884-96. Review. PubMed PMID: 17327610.	+H	CI
41	Hamberg P, Verweij J, Sleijfer S. (Pre-)clinical pharmacology and activity of pazopanib, a novel multikinase angiogenesis inhibitor. <i>Oncologist.</i> 2010;15(6):539-47. Epub 2010 May 28. Review. PubMed PMID: 20511320; PubMed Central PMCID: PMC3227994.	+H	CI

42	Chan CM, Jing X, Pike LA, Zhou Q, Lim DJ, Sams SB, Lund GS, Sharma V, Haugen BR, Schweppe RE. Targeted inhibition of Src kinase with dasatinib blocks thyroid cancer growth and metastasis. Clin Cancer Res. 2012 Jul 1;18(13):3580-91. Epub 2012 May 14. PubMed PMID: 22586301.	+H	PC
43	Mohseni M, Park BH. PIK3CA and KRAS mutations predict for response to everolimus therapy: now that's RAD001. J Clin Invest. 2010 Aug;120(8):2655-8. doi: 10.1172/JCI44026. Epub 2010 Jul 26. PubMed PMID: 20664174; PubMed Central PMCID: PMC2912204.	-H	PC
44	O'Brien NA, Browne BC, Chow L, Wang Y, Ginther C, Arboleda J, Duffy MJ, Crown J, O'Donovan N, Slamon DJ. Activated phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling confers resistance to trastuzumab but not lapatinib. Mol Cancer Ther. 2010 Jun;9(6):1489-502. Epub 2010 May 25. Erratum in: Mol Cancer Ther. 2011 Nov;10(11):2211. PubMed PMID: 20501798.	+M	PC
45	O'Brien NA, Browne BC, Chow L, Wang Y, Ginther C, Arboleda J, Duffy MJ, Crown J, O'Donovan N, Slamon DJ. Activated phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling confers resistance to trastuzumab but not lapatinib. Mol Cancer Ther. 2010 Jun;9(6):1489-502. Epub 2010 May 25. Erratum in: Mol Cancer Ther. 2011 Nov;10(11):2211. PubMed PMID: 20501798.	-H	PC
46	Nagata Y, Lan KH, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, Klos KS, Li P, Monia BP, Nguyen NT, Hortobagyi GN, Hung MC, Yu D. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. Cancer Cell. 2004 Aug;6(2):117-27. PubMed PMID: 15324695.	-H	PC
47	Xia W, Husain I, Liu L, Bacus S, Saini S, Spohn J, Pry K, Westlund R, Stein SH, Spector NL. Lapatinib antitumor activity is not dependent upon phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 in ErbB2-overexpressing breast cancers. Cancer Res. 2007 Feb 1;67(3):1170-5. PubMed PMID: 17283152.	+H	CI
48	Yang H, Higgins B, Kolinsky K, Packman K, Bradley WD, Lee RJ, Schostack K, Simcox ME, Kopetz S, Heimbrook D, Lestini B, Bollag G, Su F. Antitumor activity of BRAF inhibitor vemurafenib in preclinical models of BRAF-mutant colorectal cancer. Cancer Res. 2012 Feb 1;72(3):779-89. Epub 2011 Dec 16. PubMed PMID:22180495.	-H	PC

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni Dr. Peták Istvánnak mentorálását és gondolkodásra serkentő témavezetését, és azt, hogy lehetővé tette, hogy kutatómunkámat KPS Kft.-nél végezhessem. Szeretnék köszönetet mondani a KPS összes munkatársának, különösképpen Kohánka Andreának, hogy szakmai tanácsaikkal segítették munkámat valamint Dr. Poppe László egyetemi tanárnak a dolgozat írásában nyújtott segítségért.

