

*Aktuelne teme /
Current topics*

FARMAKOGENETSKI ZNAČAJ MUTACIJA
GENA ZA RECEPTOR EPIDERMALNOG
FAKTORA RASTA U ĆELIJAMA
NESITNOĆELIJSKOG KARCINOMA PLUĆA
PHARMACOGENETIC SIGNIFICANCE OF
EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR
GENE MUTATIONS IN NON-SMALL CELL
LUNG CARCINOMA

Jovana Drljača¹, Nebojša Janjić¹, Nataša Vučinić²,
Aleksandra Milutinović³, Milan Popović⁴, Ivan Čapo⁴,
Slobodan Sekulić⁵

Correspondence to:

Jovana Drljača

University of Novi Sad, Faculty of
Medicine,
Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad,
Serbia,
e-mail: jovana.drljaca@uns.ac.rs

¹ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad

² Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad, Katedra za farmaciju

³ Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju

⁴ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad, Katedra za histologiju i embriologiju

⁵ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad, Katedra za neurologiju

Ključne reči

nesitnoćelijski karcinom pluća, farmakogenetika, receptor epidermalnog faktora rasta, EGFR, pokretačke mutacije

Key words

non-small cell lung carcinoma, pharmacogenetics, epidermal growth factor receptor, EGFR, driver mutations

Sažetak

Najčešći tip maligniteta na svetskom nivou jeste karcinom pluća, pri čemu se u većini slučajeva radi o nesitnoćelijskom karcinomu pluća (NSCLC), koji je ujedno i najčešći tip karcinoma pluća kod nepušača. Kod većine pacijenata obolelih od NSCLC, ustanovljeno je prisustvo mutacija u genu za receptor epidermalnog faktora rasta (*EGFR*). Pored hemioterapije, razvijeno je tri generacije lekova - inhibitora tirozin-kinaza (TKI), koji uspešno deluju pri lečenju NSCLC. Međutim, do danas nije otkriven lek koji je u potpunosti efikasan, s obzirom na pojavu rezistencije kod pacijenata. Bez obzira na veliki broj sprovedenih istraživanja, i dalje postoji velika potreba za istraživanjima koja će se fokusirati na molekularnu osnovu NSCLC povezanog sa *EGFR* mutacijama.

Epidemiologija i etiologija karcinoma pluća

Pre masovne proizvodnje duvanskih proizvoda, karcinom pluća je bio redak ⁽¹⁾. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije za 2018. godinu, karcinom pluća predstavlja najčešći tip maligniteta i vodeći je uzrok smrtnosti muškaraca i žena na globalnom nivou ⁽²⁾. Takođe, na prostoru Republike Srbije, karcinom pluća se vodi kao četvrti uzrok smrtnosti stanovništva ⁽³⁾. Incidencija, prevalencija i mortalitet od karcinoma pluća značajno variraju u zavisnosti od pola, rasne i etničke pripadnosti, socio-ekonomskog statusa i geografske lokalizacije, pre svega usled razlika u istorijskom trendu pušenja ⁽⁴⁾. Danas je "epidemija" pušenja prisutna u nižim socio-ekonomskim slojevima stanovništva i zemljama u razvoju, gde se i beleži

visoka incidencija karcinoma pluća ⁽⁵⁾. Karcinom pluća se prema klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije deli na sitnoćelijski karcinom (engl. *small-cell lung carcinoma*, SCLC) i nesitnoćelijski karcinom (engl. *non small cell lung carcinoma*, NSCLC), koji je češći (>60%). Ubedljivo najčešći patohistološki tip karcinoma pluća, kako u grupi NSCLC, tako i uopšte, jeste adenokarcinom pluća (ACP) ^(1,4). Etiološki je povezan sa poznatim karcinogenima, ali i sa brojnim genetskim aberacijama koje igraju ulogu inicijalne genske promene (*driver mutation*) ^(5,6).

Kako postoje individualne varijacije u osetljivosti na respiratorne karcinogene, rizik od bolesti se predstavlja kao posledica interakcije između izlaganja karcinogenima i individualne predispozicije. Pušenje cigareta je etiološki agens

koji predstavlja ubedljivo najčešći uzrok karcinoma pluća. Duvanski dim ispoljava svoje štetno dejstvo na epitelne ćelije respiratornog sistema zahvaljujući kompleksu organskih i neorganskih karcinogena, koji indukuju progresivne genetske, ali i epigenetske promene izazivajući maligne transformacije unutar ćelija disajnih puteva. Pored duvanskog dima, faktori u vidu industrijskih štetnosti kao što su azbest, arsen, hrom, nikl, vinil-hlorid, visoke doze jonizujućeg zračenja ili infekcije najverovatnije samo doprinose povećanom riziku usled pušenja cigareta ili profesionalne izloženosti (7). Pošto se karcinom pluća razvija u samo 11% hroničnih pušača, očigledno je da postoje i drugi faktori koji predisponiraju individuu za nastanak ove bolesti, kao što su porodična istorija karcinoma pluća i postojanje polimorfizama u pojedinačnim nukleotidima (engl. *single nucleotide polymorphism* - SNP) i promena broja kopija gena (engl. *copy number alterations* - CNAs) koji su veoma raznovrsni, ali i specifični za različite vrste karcinoma pluća. Pored ovih, detektuju se i aberacije u vidu metilacije DNK na specifičnim mestima i promene u nekodirajućim delovima RNK (6).

Genomske alteracije u adenokarcinomu pluća

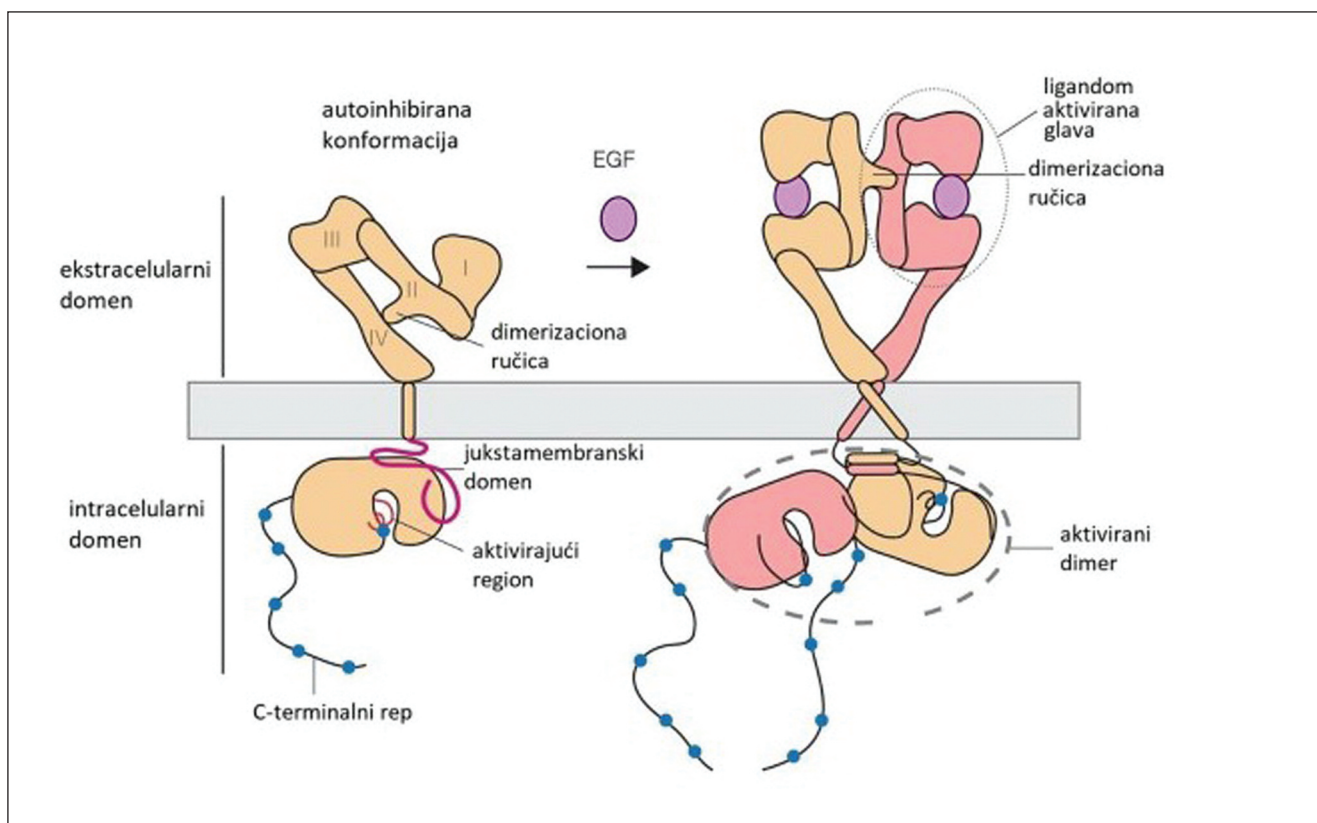
Za proces karcinogeneze neophodne su genomske alteracije. Danas je ustanovljen višestepeni proces karcinogeneze kroz gomilanje diskretnih genskih alteracija koje na kraju dovode do karcinoma, što znači da kod pacijenata sa intrinzičkom sklonošću (nasledeno genetsko opterećenje i epigenetske modifikacije) izlaganje štetnim faktorima sredine predisponira nastanak specifične somatske alteracije koja započinje inicijalnu klonsku ekspanziju. Pri procesu evolucije maligniteta, alterisana ćelija postaje genski superiorna sa klonalnom prednošću koja joj dozvoljava da proliferiše bez kontrole, invadira okolna tkiva i metastazira (8). Samo neke od somatskih mutacija su uzročno i funkcionalno povezane sa karcinogenezom i stoga nose naziv „pokretačke“ ili „aktivirajuće“ alteracije (engl. *driver*) (9). Pokretačke mutacije predstavljaju i slabu tačku tumora, iz razloga što zavisnost tumora od specifičnog onkogenog čini sam tumor potencijalno osetljivim na inhibitore koji ciljaju izmenjene onkogene i time zaustavljaju njihove protumorske osobine ili čak dovode do ćelijske smrti (10). Adenokarcinom se karakteriše velikom genetskom heterogenošću zbog značajnog broja različitih mutacija, s tom razlikom da se veći broj meta na koje deluje terapija može naći upravo u adenokarcinomu pluća. Analizom egzona, utvrđeno je da više od 75% ACP sadrži neku pokretačku genomsku alteraciju. Jedna od najčešćih pokretačkih alteracija jeste upravo mutacija gena za receptor epidermalnog faktora rasta (engl. *epidermal growth factor receptor, EGFR*) (11).

Genski lokus za *EGFR* (poznat i kao *erbB1* ili *HER1*) nalazi se na hromozomu 7p12.1. Proizvod njegove transkripcije i translacije je *EGFR* (erbB1, HER1) - receptorski glikoprotein od 170kDa, građen od 486 aminokiselina koji spada u HER porodicu receptora, zajedno sa HER2 (neu, erbB2), HER3 (erbB3) i HER4 (erbBB4). Sve članove karakteriše slična struktura - imaju krupan ekstracelularni ligand-vezujuć region sa četiri domena, jedan hidrofobni transmembranski region i tri intracelularna domena: jukstamembranski, tirozin-kinazni i C-terminalni (Slika 1).

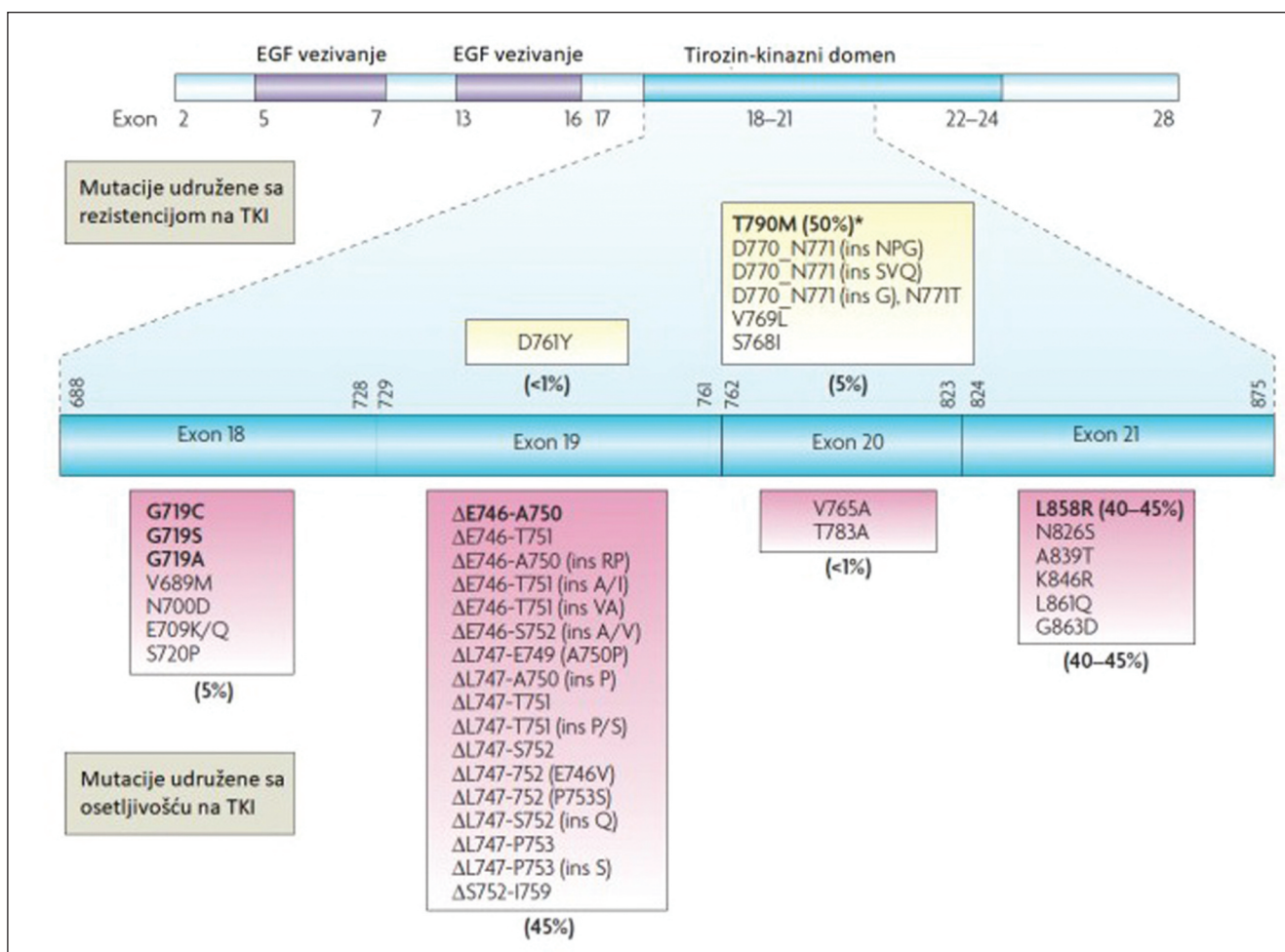
Tirozin-kinazni domen je dobio ime po brojnim tirozinskim reziduama koje su zapravo mesta fosforilacije sa ključnom ulogom u signalnoj transdukciji koja sledi po aktivaciji receptora. Ektracelularni region *EGFR*-a sadrži dva homologna ligand-vezujuća domena (domeni I i III) i dva domena bogata cistinom (označeni kao II i IV) (12).

Opisani su brojni ekstracelularni ligandi parakrinog ili autokrinog porekla koji se vezuju za receptor: epidermalni faktor rasta (EGF), transformišući faktor alfa (TGF α), betacelulin, amfiregulin, epigen, epiregulin i heparin vezujući EGF-sličan faktor rasta. Vezivanje liganda dovodi do strukturnog rearanžmana domena I i III, sa posledičnim izlaganjem domena II, pri čemu on stiče mogućnost homo/heterodimerizacije sa članovima HER familije. Dimerizaciju prati autofosforilacija multiplih intracelularnih tirozinskih rezidua, što pokreće kaskadu signalnih puteva, uključujući RAS/MAPK, PI3K/Akt i STAT signalne puteve (12, 14, 15). Signalizacija posredovana *EGFR* reguliše ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu zdravih ćelija, a tokom histogeneze modulira rast, diferencijaciju i migraciju. Povećana ekspresija *EGFR* gena (tzv. amplifikacija), povećana EGF sinteza i ekspresija *EGFR* i/ili mutacije u domenu *EGFR* gena dovode do poremećaja ćelijske homeostaze, pojave malignih, inflamatornih i autoimunih oboljenja. Primećeno je da u nekim malignim tumorima (uključujući adenokarcinom pluća), funkcija *EGFR* postaje deregulisana, usled izmenjene ekspresije proteina koji regulišu *EGFR* signalne puteve, uzrokujući nekontrolisanu proliferaciju tumorskih ćelija, izbegavanje apoptoze, uvećanje sposobnosti migracije tumorskih ćelija i metastaziranje. Na taj način, suprotno njegovoj prirodnoj ulozi, *EGFR* postaje onkoprotein (12, 15, 16, 17).

Godine 2004. su otkrivene somatske mutacije za tirozin-kinazni domen *EGFR* kod pacijenata sa NSCLC, koje su bile povezane sa ekspresijom tiroidnog transkripcionog faktora 1 (TTF-1). Ove somatske mutacije su bile prisutne u egzonima 18-21 gena za tirozin-kinazni domen *EGFR*, a uticale su na ATP-vezujuće mesto receptora. (15). Mutacije u *EGFR* genu se javljaju kod oko 20% pacijenata belaca i kod oko 40% pacijenata azijskog porekla (18), a češće se javljaju kod mladih žena koje ne konzumiraju cigarete (19). Na osnovu tipa promene, *EGFR* mutacije se klasifikuju u tri grupe. U grupu 1 spadaju *in frame* delecije u egzonu 19, koje dovode do gubitka četiri-šest aminokiselina; u grupu 2 spadaju pojedinačne nukleotidne supstitucije koje mogu desiti u egzonima 18-21 i u grupu 3 spadaju *in frame* duplikacije ili insercije koje se najčešće dešavaju na egzonu 20 (20). Većina *EGFR* mutacija u vezi sa NSCLC su tačkaste mutacije ili *in-frame* delecije. Prema rezultatima više objavljenih studija koje se bave učestalošću pojedinih podtipova mutacija, vidi se da su najčešće tačkaste mutacije L858R u egzonu 21 i del747-749 u egzonu 19 i da zajedno čine i do 85% svih *EGFR* mutacija (21). Ove mutacije se nazivaju aktivirajuće mutacije (*activating mutations*), koje su konstitutivno aktivne i onkogene, a mutantni produkti su kinaze sa smanjenim afinitetom za ATP. Oko 10% *EGFR* mutacija čine retke mutacije, u koje spadaju G719 u egzonu 18, mutacije u egzonu 20, manje česte mutacije u egzonima 19 i 21 i složene mutacije, pri čemu njihov klinički značaj još uvek nije najjasniji. (22).



Slika 1. Grafički prikaz strukture pojedinačnog EGFR proteina (levo) i aktiviranog dimera (desno) (preuzeto i modificirano) (13)



Slika 2. Najčešće mutacije u egzonima 18-21 i njihova povezanost sa osetljivošću/resistencijom na inhibitore tirozin-kinaze (preuzeto i modificirano) (25)

Vremenom je pokazano da različite mutacije dovode do različite osetljivosti hiperaktivnog receptora na inhibiciju lekovima iz grupe inhibitora tirozin-kinaza (TKI). Tako je pokazano da tumori sa delecijama u egzonu 19 (del19) bolje reaguju na gefitinib i erlotinib (inhibitori tirozin-kinaza prve generacije) nego tumori koji poseduju mutacije u egzonu 21 (21). Dodatno, trenutno postoje neslaganja oko toga da li postoji povezanost između tipa mutacije, tj. diferencijalne osetljivosti na različite TKI i smanjenog rizika od progresije i dužeg opšteg preživljavanja. Iako su rezultati nekoliko studija (22, 23, 24) pokazali da ovakva veza postoji, tj. da pacijenti sa mutacijama u egzonu 19 imaju smanjeni rizik od progresije bolesti i duže opšte preživljavanje od pacijenata sa mutacijom u egzonu 21, mehanizmi ove povezanosti još uvek nisu objašnjeni. Specifične mutacije povezane sa senzitivnošću ili rezistencijom na TKI prikazane su na **Slici 2**.

Usled još uvek nepoznatih mehanizama, u nekom trenutku lečenja se kod svih pacijenata sa NSCLC javlja progres ove bolesti zbog pojave rezistencije na trenutno dostupne lekove (15). Rezistencija može biti primarna ili stečena i oba tipa se viđaju pri lečenju NSCLC (26, 27). Interesantno je izdvojiti tačkastu mutaciju T790M na egzonu 20, koja dovodi do zamene metionina za treonina i time onemogućava vezivanje reverzibilnih TKI (19). Mutacija T790M ima dvostruku ulogu. U veoma maloj populaciji pacijenata, ova mutacija se pojavljuje kao nasledna i uzrokuje primarnu rezistenciju na EGFR TKI (28). Međutim, pravi klinički značaj ove mutacije leži u činjenici da se ona razvija sekundarno, nakon tretmana TKI, pri tome uzrokujući stečenu rezistenciju na ove lekove. U nekim studijama, ova mutacija se pojavila u čak 63% lečenih TK inhibitorima (29). Danas postoje irerverzibilni TKI koji deluju i na ovako mutirane ćelije, a naročito su efikasni lekovi specifičnog afiniteta za T790M. Pritom, mutacije u egzonu 20 su udružene sa urođenom rezistencijom na inhibitore tirozin-kinaza, a one mogu činiti i do 9% EGFR mutacija (30, 31). Pored mutacije T790M, pri primeni TKI treće generacije javljaju se i druge mutacije (npr. C797S), a očekuje se i otkrivanje novih s obzirom na to da je primena TKI u terapiji pacijenata sa NSCLC u procesu optimizacije (32).

Postoje još dodatna dva nerazjašnjena problema koja tiču NSCLC i njegove molekularne osnove (15). Prvi se tiče obrasca metastaziranja. Sa jedne strane postoji stav da tumori zavisni od onkogeni imaju specifičan obrazac metastaziranja. Neke studije potvrđuju da se kod pacijenata sa delecijama u egzonu 19 uočava poseban vid metastaziranja na mozgu (33), dok rezultati drugih studija ukazuju na suprotno (34). Drugi nerazjašnjen problem tiče se genetičke heterogenosti tumora. Trenutno se ispitivanje prisustva određene mutacije povezane sa NSCLC vrši iz materijala uzetog pri biopsiji tkiva. Postavlja se pitanje da li je dovoljno vršiti biopsiju sa jednog regiona, što je uobičajeni pristup ili je ipak potrebno uzeti uzorke sa više regiona tkiva, s obzirom da su De Bruin i saradnici konstatovali da postoji prostorna i vremenska heterogenost tumora kod NSCLC (35). Suprotno rezultatima ove studije, Zhang i saradnici (36) su opovrgli ovu teoriju, zauzevši stav da je biopsija sa jednog regiona tkiva dovoljna pri testiranju, što je dodatno podržano činjenicom da se onkogeni pokretačka mutacija javlja rano u tumorigenezi, te je prisutna i u pri-

marnom tumoru i u metastazama (37). S obzirom na poteškoće u radu sa uzorcima biopsije i nastojanje da se EGFR mutacije otkriju što ranije, u razvoju je još nekoliko načina na koje bi se precizno i rano mogle utvrditi mutacije u genu EGFR. Neke od njih su masena spektrometrija na čipu, zatim imunohistohehemijska metoda koja podrazumeva antitela koja će prepoznavati mutacije i testovi iz krvi, tačnije slobodne cirkulišuće tumorske DNK (20, 38). Pored samih mutacija u EGFR genu, postoje dokazi o čestoj prisutnosti pratećih genetičkih alteracija kod NSCLC, koje pospešuju progresiju tumora i ograničavaju uspeh ciljane terapije, kao što su promene u Wnt/ β -katenin signalnom putu ili promene u ćelijskom ciklusu (39).

Terapijski značaj EGFR mutacija

Prognostički značaj EGFR mutacija u hirurški lečenim NSCLC je predmet rasprava i suprotstavljenih stavova. U studiji sprovedenoj u Srbiji, Zarić i saradnici(40) navode da je procenat EGFR mutiranih alela prisutan u 11,7% bolesnika sa uznapredovalim stadijumom karcinoma. Vežanost tumora za specifični onkogeni signalni put ga čini osetljivim na molekule koji taj put selektivno blokiraju ili ometaju (12). U IPASS i NEJ002 studijama je pokazano da prisustvo EGFR mutacije u ćelijama adenokarcinoma pluća ima visoko prediktivni značaj za odgovor na terapiju kao i bolju prognozu kod uznapredovalih tumorskih procesa (41). Činjenica da su neke od EGFR mutacija udružene sa porodičnom istorijom karcinoma pluća može predstavljati osnovu za buduća genetska savetovanja i skrining programe u populaciji sa povišenim rizikom za predispoziciju za karcinom pluća. Lečenje NSCLC, uključujući adenokarcinom pluća, već uveliko evoluirao od primene citotoksične hemioterapije na primenu personalizovane target terapije zasnovane na postojanju genskih mutacija (42), s obzirom na to da su mnoge studije pokazale da TKI daju bolje efekte pri lečenju pacijenata sa NSCLC (43).

Pored hemioterapije, postoje tri generacije inhibitora tirozin-kinaza (TKI) kojima se tretiraju pacijenti sa NSCLC povezanim sa mutiranim EGFR, koji ne samo da imaju izraženiji uticaj na preživljavanje pacijenata sa NSCLC, već imaju i manje toksične efekte (najčešće osip i dijareja) u odnosu na toksične efekte hemioterapije (38, 43). Lečenje pacijenata ciljanom terapijom započelo je još pre naučnih studija koje su objasnile značaj mutacija. Primećeno je da gefitinib (TKI prve generacije) dovodi do povoljnog terapijskog odgovora u 10-20% neselektovane populacije karcinoma pluća (44). Za erlotinib je primećeno da produžava preživljavanje, ali je zanimljivije bilo da određene podgrupe pacijenata sa adenokarcinomom, žene, nepušači, azijskog porekla mnogo bolje reaguju na terapiju (45). U studijama iz 2004. godine opisane su prve mutacije koje čine adenokarcinom senzitivnim na gefitinib (46). Od tada kreće eksponencijalni razvoj farmaceutskih agenasa, njihovo ispitivanje i pronalaženje molekularnih metoda detekcije specifičnih mutacija. EGFR inhibitori tirozin-kinaza deluju na intracelularni domen ovog receptora i blokiraju njegovu nishodnu signalizaciju, smanjujući aktivnost receptora. Lekovi prve generacije (gefitinib i erlotinib) su kroz veliki broj studija pokazali superiornost kao terapija prvog izbora kod EGFR-mutiranih NSCLC u odnosu na hemioterapiju.

Takođe, lekovi prve generacije pokazuju veću inhibitornu aktivnost kod *EGFR* mutiranog gena u poređenju sa divljim tipom *EGFR*. Primećeno je produženje perioda bez bolesti, poboljšanje kvaliteta života pa čak i produženo preživljavanje (43, 47). Drugoj generaciji lekova pripada afatinib, ireverzibilni inhibitor koji se kovalentno vezuje za receptor i uzrokuje njegovu jaču inhibiciju, sa boljim efektom na preživljavanje i period bez bolesti, ali i više toksičnih efekata (48). Jedan od najčešćih mehanizama stečene rezistencije kod pacijenata nakon tretmana koji podrazumeva TKI, dokazan u 50-65% pacijenata podvrgnutih rebiopsiji pluća, je mutacija T790M (49). Postoje različite strategije pri sprečavanju ili odlaganju pojave ove rezistencije, a neke od njih su kombinovanje hemioterapije sa terapijom TKI ili istovremeno targetiranje sporednih signalnih puteva koji povezuju glavne signalne puteve, kao na primer kombinovana inhibicija *EGFR* i *MET* (43). Treća generacija ireverzibilnih inhibitora (osimertinib, olmutinib), koji pogađaju specifičnu mutaciju T790M, (a nemaju uticaj na divlji tip receptora) pokazali su značajno produženje perioda bez bolesti, manje neželjene efekte i odobreni su od strane Agencije za hranu i lekove (50). U ispitivanju je rociletinib, novi ireverzibilni, mutantselektivni TKI, kao i brojni drugi eksperimentalni lekovi u fazama I i II (51), od kojih se izdvaja AZD9291, koji se od svih ostalih razlikuje po svojoj strukturi u vidu monoanilino-pirimidina (15). Za sada, za pacijente koji nemaju T790M mutaciju u trenutku progresije bolesti, hemioterapija na bazi platine kao i produžena terapija TKI se smatra se prihvatljivom opcijom, mada personalizovana terapija i blokada kontrolnih tačaka imunoterapijom predstavlja osnovu za buduću terapiju (52).

Pored inhibitora tirozin kinaze, opcija za lečenje su i monoklonalna antitela – cetuksimab (*cetuximab*) i bevacizumab (*bevacizumab*). Cetuksimab se kompetitivno

vezuje za *EGFR* i sprečava vezivanje liganda. Metaanaliza koja je proučavala uticaj dodatka cetuksimaba na hemioterapiji za uznapredovali NSCLC je pokazala značajno poboljšanje preživljavanja i odgovora na terapiju uz produženje perioda bez progresije bolesti (47, 53). Bevacizumab blokira VEGF (*Vascular endothelial growth factor*, vaskularno endotelni faktor rasta) signalni put, upotrebljava se u kombinaciji sa hemioterapijom i za sada je uspešan pri produžavanju životnog veka pacijenata sa NSCLC, pri čemu je veoma skup (54).

ZAKLJUČAK

Otkriće *EGFR* mutacija povezanih sa NSCLC bilo je veoma značajno za razumevanje i tretman ove bolesti. Bez obzira na veliko interesovanje za NSCLC i *EGFR* i veliki broj objavljenih studija, istraživanje u ovoj oblasti bi trebalo nastaviti u velikom obimu zbog mnogih postojećih nedoumica i visoke incidencije bolesti, kako bi pacijentima sa NSCLC bila dostupna najkvalitetnija i najdelotvornija terapija. Detaljnim upoznavanjem sa molekularnom patologijom NSCLC moguće je odgovoriti na još uvek neodgovorena pitanja o povezanosti NSCLC i *EGFR*, od utvrđivanja svih mutacija koje se pojavljuju kod NSCLC, preko otkrivanja mehanizama rezistencije na TKI i načina da se rezistencija prevaziđe, do razvijanja bržih i preciznijih načina testiranja na mutacije u vezi sa *EGFR* i NSCLC.

Zahvalnica

Ovaj tekst je proistekao iz rada u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (rešenje broj 175006).

Abstract

Lung cancer is the most common malignant disease worldwide. Non small cell lung carcinoma (NSCLC) is present in the majority of cases and also represents the most common type of lung cancer in non-smokers. Mutations in epidermal growth factor receptor gene (*EGFR*) are found in most patients diagnosed with NSCLC. Besides chemotherapy, three generations of drugs tyrosine-kinase inhibitors (TKIs) are developed and they have made a success in the treatment of NSCLC. However, up to now no drug was found to be fully efficient due to the constant development of resistance in patients. Despite the great number of conducted studies, there is still a need for further research which will focus on molecular basis of NSCLC associated with *EGFR* mutations.

LITERATURA

1. Islami F, Torre LA, Jemal A. Global trends of lung cancer mortality and smoking prevalence. *Translational Lung Cancer Research*. 2015;4:327–38.
2. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>, pristupljeno dana 01.02.2018.
3. Institut za javno zdravlje Srbije “Dr Milan Jovanović Batut”. *Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije 2017*. Beograd, 2018.
4. Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung Cancer Statistics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016;893:1–19.
5. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends—An Update. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2016;25:16–27.
6. Alberg AJ, Brock M V, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143:e1S–e29S.
7. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics in Chest Medicine*. 2011;4:605–44.
8. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100:57–70.
9. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009;458:719–24.
10. De S, Ganesan S. Looking beyond drivers and passengers in cancer genome sequencing data. *Annals of Oncology*. 2017;28:938–945.
11. Tamborero D, Gonzalez-Perez A, Perez-Llomas C, Deu-Pons J, Kandoth C, Reimand J, Lawrence MS, Getz G, Bader GD, Ding L, Lopez-Bigas N. Comprehensive identification of mutational cancer driver genes across 12 tumor types. *Scientific Reports*. 2013;3:2650.
12. Siegelin MD, Borczuk AC. Epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma. *Laboratory Investigation*. 2014;94:129–37.
13. Kovacs E, Zorn JA, Huang Y, Barros T, Kuriyan J. A structural perspective on the regulation of the epidermal growth factor receptor. *Annual review of biochemistry*. 2015;84:739–64.
14. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2000;103:211–25.
15. Russo A, Franchina T, Ricciardi GRR, Picone A, Ferraro G, Zanhgi M, Toscano G, Giordano A, Adamo V. A decade of EGFR inhibition in EGFR-mutated non small cell lung cancer (NSCLC): Old successes and future perspectives. *Oncotarget*. 2015;6(29):26814–25.
16. Tsiambas E, Lefas AY, Georgiannos SN, Ragos V, Fotiadis PP, Grapsa D, Stamatelopoulou A, Kavantzias N, Patsouris E, Syrigos K. EGFR gene deregulation mechanisms in lung adenocarcinoma: A molecular review. *Pathology, Research and Practice*. 2016;212:672–7.
17. Roskoski R Jr. The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacological Research*. 2014;79:34–74.
18. Sriram KB, Larsen JE, Yang IA, Bowman RV, Fong KM. Genomic medicine in non-small cell lung cancer: paving the path to personalized care. *Respirology*. 2011;16:257–63.
19. Cooper WA, Lam DCL, O’Tolle SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2013;5(5):S479–S490.
20. Da Cunha Santos G, Shepher FA, Tsao MS. EGFR Mutations and Lung Cancer. *Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease*. 2011;6:49–69.
21. Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, Horio Y, Hida T, Mori S, Hatooka S, Shinoda M, Takahashi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23:2513–20.
22. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, Seto T, Satouchi M, Tada H, Hirashima T, Asami K, Katakami N, Takada M, Yoshioka H, Shibata K, Kudoh S, Shimizu E, Saito H, Toyooka S, Nagakawa K, Fukuoka M. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2010;11:121–8.
23. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, Sunpaweravong P, Leong SS, Sriuranpong V, Chao TY, Nakagawa K, Chu DT, Saijo N, Duffield EL, Rukazekov Y, Speake G, Jiang H, Armour AA, To KF, Yang JC, Mok TS. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29:2866–74.
24. Yang JC, Wu YL, Schuler M, Sebastian M, Popat S, Yamamoto N, Zhou C, Hu CP, O’Byrne K, Feng J, Lu S, Huang Y, Geater SL, Lee KY, Tsai CM, Gorbunova V, Hirsh V, Bannouna J, Orlov S, Mok T, Boyer M, Su WC, Lee KH, Kato T, Massey D, Shahidi M, Zazulina V, Sequist LV. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *The Lancet Oncology*. 2015;16(2):141–51.
25. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nature Reviews Cancer* 2007;7:169–81.
26. Cortot AB, Jänne PA. Molecular mechanisms of resistance in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas. *The European Respiratory Review*. 2014;23:356–66.
27. Lovly CM, Shaw AT. Molecular pathways: resistance to kinase inhibitors and implications for therapeutic strategies. *Clinical Cancer Research*. 2014;20:2249–56.
28. Rosell R, Molina MA, Costa C, Simonetti S, Gimenez-Capitan A, Bertran-Alamillo J, Mayo C, Moran T, Mendez P, Cardenal F, Isla D, Provencio M, Cobo M, Insa A, Garcia-Campelo R, Reguart N, Majem M, Viteri S, Carcereny E, Porta R, Massuti B, Queralt C, de Aguirre I, Sanchez JM, Sanchez-Ronco M, Mate JL, Ariza A, Benlloch S, Sanchez JJ, Bivona TG, Sawyers CL, Taron M. Pretreatment EGFR T790M mutation and BRCA1 mRNA expression in erlotinib-treated advanced non-small-cell lung cancer patients with EGFR mutations. *Clinical Cancer Research*. 2011;17:1160–8.
29. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, Kris MG, Miller VA, Ladanyi M, Riely GJ. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clinical Cancer Research*. 2013;19:2240–7.
30. Wu J-Y, Wu S-G, Yang C-H, Gow C-H, Chang Y-L, Yu C-J, Shih JY, Yang PC. Lung Cancer with Epidermal Growth Factor Receptor Exon 20 Mutations Is Associated with Poor Gefitinib Treatment Response. *Clinical Cancer Research*. 2008;14:4877–82.
31. Pallan L, Taniere P, Koh P. Rare EGFR exon 20 S768I mutation predicts resistance to targeted therapy: a report of two cases. *Journal of Thoracic Oncology*. 2014;9:e75.
32. Grabe T, Lategahn J, Rauh D. C797S Resistance: The Undruggable EGFR Mutation in Non-Small Cell Lung Cancer? *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2018;9:779–782.
33. Sekine A, Kato T, Hagiwara E, Shinohara T, Komagata T, Iwasawa T, Satoh H, Tamura K, Kasamatsu T, Hayashihara K, Saito T, Takahashi H, Ogura T. Metastatic brain tumors from non-small cell lung cancer with EGFR mutations: distinguishing influence of exon 19 deletion on radiographic features. *Lung Cancer*. 2012;77:64–9.
34. Mak KS, Gainor JF, Niemierko A, Oh KS, Willers H, Choi NC, Loeffler JS, Sequist LV, Shaw AT, Shih HA. Significance of targeted therapy and genetic alterations in EGFR, ALK, or KRAS on survival in patients with nonsmall cell lung cancer treated with radiotherapy for brain metastases. *Neuro Oncol*. 2015;17:296–302.
35. de Bruin EC, McGranahan N, Mitter R, Salm M, Wedge DC, Yates L, Jamal-Hanjani M, Shafi S, Murugaesu N, Rowan AJ, Grönroos E, Muhammad MA, Horswell S, Gerlinger M, Varela I, Jones D, Marshall J, Voet T, Van Loo P, Rasi DM, Rintoul RC, Janes SM, Lee SM, Forster M, Ahmad T, Lawrence D, Falzon M, Capitanio A, Harkins TT, Lee CC, Tom W, Teeffe E, Chen SC, Begum S, Rabinowitz A, Phillimore B, Spencer-Dene B, Stamp G, Szallasi Z, Matthews N, Stewart A, Campbell P, Swanton C. Spatial and temporal diversity in genomic instability processes defines lung cancer evolution. *Science*. 2014;346:251–6.
36. Zhang J, Fujimoto J, Zhang J, Wedge DC, Song X, Zhang J, Seth S, Chow CW, Cao

- Y, Gumbs C, Gold KA, Kalhor N, Little L, Mahadeshwar H, Moran C, Protopopov A, Sun H, Tang J, Wu X, Ye Y, William WN, Lee JJ, Heymach JV, Hong WK, Swisher S, Wistuba II, Futreal PA. Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas delineated by multi-region sequencing. *Science*. 2014;346:256–9.
37. Vignot S, Frampton GM, Soria JC, Yelensky R, Commo F, Brambilla C, Palmer G, Moro-Sibilot D, Ross JS, Cronin MT, André F, Stephens PJ, Lazar V, Miller VA, Brambilla E. Nextgeneration sequencing reveals high concordance of recurrent somatic alterations between primary tumor and metastases from patients with non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31:2167–72
38. Mok T, Wu YL, Lee JS, Yu CJ, Sriuranpong V, Sandoval-Tan J, Ladrera G, Thongprasert S, Srimuninnimit V, Liao M, Zhu Y, Zhou C, Fuente F, Margono B, Wen W, Tsai J, Truman M, Klughammer B, Shames DS, Wu L. Detection and Dynamic Changes of EGFR Mutations from Circulating Tumor DNA as a Predictor of Survival Outcomes in NSCLC Patients Treated with First-line Intercalated Erlotinib and Chemotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2015; 21(14):3196-203.
39. Blakely CM, Watkins TBK, Wu W, Gini B, Chabon JJ, McCoach CE, McGranahan N, Wilson GA, Birkbak NJ, Olivas VR, Rotow J, Maynard A, Wang V, Gubens MA, Banks KC, Lanman RB, Caulin AF, St John J, Cordero AR, Giannikopoulos P, Simmons AD, Mack PC, Gandara DR, Husain H, Doebele RC, Riess JW, Diehn M, Swanton C, Bivona TG. Evolution and clinical impact of co-occurring genetic alterations in advanced-stage EGFR-mutant lung cancers. *Nature Genetics*. 2017;49(12):1693-1704.
40. Zaric B, Stojic V, Kovacevic T, Sarcev T, Tepavac A, Jankovic R, Spasic J, Radosavljevic D, Zarogoulidis P, Vukobradovic-Djoric N, Perin B. Clinical characteristics, tumor, node, metastasis status, and mutation rate in domain of epidermal growth factor receptor gene in serbian patients with lung adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2014;9:1406–10.
41. Savas P, Hughes B, Solomon B. Targeted therapy in lung cancer: IPASS and beyond, keeping abreast of the explosion of targeted therapies for lung cancer. *Journal of Thoracic Diseases*. 2013;5(5):S579-92.
42. Devarakonda S, Morgensztern D, Govindan R. Genomic alterations in lung adenocarcinoma. *The Lancet Oncology*. 2015;16:e342-51.
43. Barber EA, Reckamp KL. Best Initial Treatment Strategies for EGFR-Mutant Lung Cancer. *The American Journal of Hematology/Oncology*. 2016;12(12):4-7.
44. Kris MG, Natale RB, Herbst RS, Lynch TJ, Prager D, Belani CP, Schiller JH, Kelly K, Spiridonidis H, Sandler A, Albain KS, Cella D, Wolf MK, Averbuch SD, Ochs JJ, Kay AC. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. *The Journal of the American Medical Association*. 2003;290:2149–58.
45. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, Campos D, Maoleekoonpiroj S, Smylie M, Martins R, van Kooten M, Dediu M, Findlay B, Tu D, Johnston D, Bezjak A, Clark G, Santabarbara P, Seymour L. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(2):123-32.
46. 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. *New England Journal of Medicine*. 2004;350:2129–39.
47. Stankov K. Biohemijske i molekularne osnove farmakogenetike. U: Stankov K. Biohemija i genetika naslednih bolesti. Novi Sad: Medicinski fakultet, 2016;228-241.
48. Hirsch FR, Scagliotti G V., Mulshine JL, Kwon R, Curran WJ, Wu YL, Paz-Ares L. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *The Lancet* 2017;389:299–311.
49. Sequist L V, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, Bergethon K, Shaw AT, Gettinger S, Cospoer AK, Akhavanfard S, Heist RS, Temel J, Christensen JG, Wain JC, Lynch TJ, Vernovsky K, Mark EJ, Lanuti M, Iafraite AJ, Mino-Kenudson M, Engelman JA. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Science Translational Medicine*. 2011;3(75):75ra26.
50. Jänne PA, Yang JC-H, Kim D-W, Planchard D, Ohe Y, Ramalingam SS, Ahn MJ, Kim SW, Su WC, Horn L, Haggstrom D, Felip E, Kim JH, Frewer P, Cantarini M, Brown KH, Dickinson PA, Ghiorghiu S, Ranson M. AZD9291 in EGFR Inhibitor-Resistant Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;372:1689–99.
51. Sequist L V, Rolfe L, Allen AR. Rociletinib in EGFR -Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;373:578–9.
52. Lim MS, Syn N, Cho B, Soo R. Acquired resistance to EGFR targeted therapy in non-small cell lung cancer: Mechanisms and therapeutic strategies. *Cancer Treatment Reviews*. 2018; 65:1-10.
53. Pujol J-L, Pirker R, Lynch TJ, Butts CA, Rosell R, Shepherd FA, Vansteenkiste J, O’Byrne KJ, de Blas B, Heighway J, von Heydebreck A, Thatcher N. Meta-analysis of individual patient data from randomized trials of chemotherapy plus cetuximab as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2014;83:211–8.
54. Forde PM, Ettinger DS. Targeted therapy for non-small-cell lung cancer: past, present and future. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2013;13(6):745-758.